



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS**

Preparação e Caracterização de Micro e Nanopartículas Lipídicas Sólidas para Aplicação em Cosméticos

Autor: Marcos Roberto Rossan

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Andrade Santana

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Campinas - São Paulo

Julho/ 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

R733p Rossan, Marcos Roberto
Preparação e caracterização de micro e nanopartículas
lipídicas sólidas para aplicação em cosméticos / Marcos
Roberto Rossan. --Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Maria Helena Andrade Santana.
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Nanoparticulas lipidicas solidas. 2.
Microparticulas lipidicas. 3. Cera de carnaúba. 4.
Cosmeticos. 5. Secagem por atomização. I. Santana,
Maria Helena Andrade. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III.
Título.

Título em Inglês: Preparation and characterization of solid lipid micro and
nanoparticles, for application in cosmetics

Palavras-chave em Inglês: Spray cooling, Solid lipid nanoparticle, Phase
inversion, Activeshine Amazon, Carnauba wax

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Samantha Cristina de Pinho, Gustavo de Campos Dieamant

Data da defesa: 28/07/2011

Programa de Pós Graduação: Engenharia Química

Dissertação de Mestrado defendida por Marcos Roberto Rossan, e aprovada em 28 de julho de 2011, pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Professora Dra. Maria Helena Andrade Santana
Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP
(Orientadora)

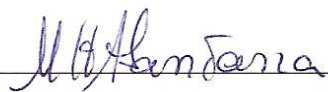


Professora Dra. Samantha Cristina de Pinho
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP
(Membro)



Professor Dr. Gustavo de Campos Dieamant
Chemyunion Química Ltda
(Membro)

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, defendida por Marcos Roberto Rossan e aprovada pela comissão julgadora em 28 de julho de 2011.

A handwritten signature in blue ink, reading "M. H. Santana", is positioned above a horizontal line.

Profa. Dra. Maria Helena Andrade Santana

DEDICATÓRIA

À meu saudoso pai, Albino, que de seu modo peculiar, foi um exemplo de vida demonstrado pela sua fé, humildade, simplicidade e honestidade.

À minha mãe, Aparecida, por ser exemplo de pureza, simplicidade, amor, dedicação e fé.

À meus irmãos Hélio, Dorival, Nelson, Ivone, Elza, Vilma, por sempre estarem irradiando otimismo e perseverança.

À minha esposa, Élen, por seu amor, motivação, dedicação, amizade, apoio e compreensão.

Aos meus filhos Igor, Iago e Emily, por revigorarem diariamente a minha vontade de viver.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela dádiva da vida, sabedoria, e por sempre estar comigo e me guiar.

À Chemyunion Química Ltda, por ter oferecido esta oportunidade de crescimento e desenvolvimento intelectual.

À diretora científica da Chemyunion, Maria Del Carmen, pelo incentivo, sugestões e oportunidade da realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Maria Helena Andrade Santana pela oportunidade oferecida, incentivo, sugestões e orientação segura e objetiva em todas as etapas do trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Grosso, da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, por ter contribuído para o bom andamento da primeira parte deste trabalho.

À FINEP, Financiadora de Estudos e Projetos, por ter apoiado o trabalho.

À Cecília e Gustavo, pelas sugestões e importantes contribuições ao andamento e finalização deste trabalho.

Aos funcionários da Unicamp: Gilson e Kelly, pelo auxílio e testes realizados.

Aos meus colegas do Laboratório de Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos, pela alegre convivência e auxílio ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas do laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento da Chemyunion, Edson, Samuel, Elizângela, Lílian, Nilton, Silvio, Camila e Marcus, pela convivência, sugestões e auxílio ao desenvolvimento deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

RESUMO

Neste trabalho, estudou-se o desenvolvimento tecnológico de micro/ nanopartículas lipídicas sólidas para aplicação cosmética capilar. As micropartículas foram produzidas por *spray cooling*, onde incorporou-se na matriz lipídica, composta por ceras naturais de origem vegetal (cera de carnaúba), mineral (microparafina) e sintética (cera de silicone), um ativo doador de brilho capilar, de nome comercial *Activeshine Amazon*, composto por uma mistura de triglicerídeos de murumuru e babaçú.

As micropartículas foram obtidas a partir de misturas contendo 30% das ceras, porém a incorporação total do ativo na matriz lipídica ocorreu a partir de 70% de cera. A produção das micropartículas foi estudada através de um planejamento estatístico de experimentos e análise de superfície de resposta, onde determinou-se a influência da pressão do ar de atomização e concentração da cera, sobre o diâmetro médio. Os resultados mostraram que a pressão do ar de atomização foi a principal variável de significância estatística para os três tipos de ceras. Foram obtidas micropartículas esféricas, com diâmetro entre 30 - 320 μm .

As nanopartículas foram obtidas a partir da mistura lipídica composta por 50% de *Activeshine Amazon* e 50% de cera de carnaúba, além de sorbitol, óleo de mamona PEG-40 e quaternários de amônio (CTAC, BTAC e SDBAC), via nano-emulsificação de baixa energia, através do processo de inversão de fase por temperatura. Foram obtidas partículas com 0,08 a 0,35 de polidispersidade, 45 - 190 nm de diâmetro médio, e -20 A +70 mV de potencial zeta. Nestes estudos, verificou-se a influência destes componentes da formulação sobre o ponto de inversão de fase, comprovado por medidas de condutividade elétrica.

Estes resultados mostram que os processos de *spray cooling* e nano-emulsificação utilizando ceras e triglicerídios produzem micro e nanopartículas que atendem aos requisitos de diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta para aplicação capilar. Essas partículas são também potencialmente úteis para a encapsulação de bioativos e desenvolvimento de formulações mais eficazes comparadas às que utilizam os compostos livres.

Palavras chave: partículas lipídicas sólidas, *spray cooling*, inversão de fase, *Activeshine Amazon*, cera de carnaúba.

ABSTRACT

This work studied the technological development of solid lipid micro and nanoparticales for cosmetic hair application. The microparticles were produced through *spray cooling* process, in which an active donator of hair brightness, commercially named *Activeshine Amazon* was incorporated. The solid lipid matrix was composed by waxes from vegetal (carnauba), mineral (microparaffin) and synthetic (silicon) origin. The *Activeshine Amazon* is a mixture of triglycerides from murumuru butter and babassu oil.

The microparticles were obtained from admixtures containing 30% of the waxes, but the total incorporation of the active in the lipid matrix occurred from 70% only. The production of microparticles was studied through a statistical experimental planning and surface response analysis from which it was determined the influence of the inlet atomization air pressure and wax concentration on the mean diameter of the particles. The results shown the air pressure was the statistically main significant variable for the three studied waxes. The mean diameter of the obtained spherical microparticles was in the range of 30 to 320 μm .

The nanoparticles were obtained through low-energy nano-emulsification process, known as temperature phase inversion. They were composed by a mixture of 50% *Activeshine Amazon* and 50% of carnauba wax, in which was also added sorbitol, castor oil PEG-40 and the ammonium quaternaries CTAC, BTAC and SDBAC. They presented 0.08 to 0.35 polydispersity, 45 to 190 nm mean diameter and -20 to + 70 mV zeta potential. The visual influence of the components of the formulation on the inversion phase temperature was comproved by electrical conductivity measurements.

From these results we conclude that the *spray cooling* and nano-emulsification processes which use triglycerides as raw materials produce nano and microparticles which to meet the mean diameter, polydispersity and zeta potential requirements for hair care application. In addition to that, the particles are potentially useful for encapsulation of bioactives and also for the development of more efficient formulations than the free compounds ones.

Keywords: solid lipid nanoparticles, *spray cooling*, phase inversion, *Activeshine Amazon*, carnaúba wax.

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
SUMÁRIO	xv
LISTA DE FIGURAS	xxi
LISTA DE TABELAS	xxix
NOMENCLATURA	xxxiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1. Óleos e Gorduras	7
3.1.1. Composição química	7
3.1.2. Óleos e gorduras da Amazônia	8
3.1.3. Óleos e gorduras em cosméticos	9
3.2. Ceras	12
3.2.1. Definição e origem	12
3.2.2. Composição química	13
3.2.3. Ceras em cosméticos	15
3.3. Tensoativos.....	16
3.4. O Cabelo	18
3.4.1. Morfologia do cabelo	18
3.4.2. Composição química	20
3.4.3. Brilho capilar	22
3.5. Cosméticos	23
3.5.1. Definição e classificação	23
3.5.2. Cosméticos para cabelo	24

3.6. Encapsulação.....	24
3.7. Microencapsulação.....	25
3.8. Nanoencapsulação em cosméticos.....	27
3.9. Partículas lipídicas sólidas	28
3.9.1. Descrição estrutural das nanopartículas lipídicas sólidas.....	30
3.9.2. Métodos de produção de micro e nanopartículas lipídicas sólidas.....	31
3.9.2.1. Métodos de produção de micropartículas lipídicas sólidas.....	32
3.9.2.1.1. Atomização e cristalização por congelamento (<i>Spray cooling</i>)	32
3.9.2.1.2. Secagem por atomização (<i>Spray Drying</i>)	35
3.9.2.1.3. Emprego de fluido supercrítico.....	35
3.9.2.2. Métodos de produção de nanopartículas lipídicas sólidas	36
3.9.2.2.1. Homogeneização por alta pressão	36
3.9.2.2.1.1. Homogeneização por alta pressão à quente	37
3.9.2.2.1.2. Homogeneização por alta pressão a frio	37
3.9.2.2.2. Microemulsão	38
3.9.2.2.3. Emulsificação-evaporação do solvente	38
3.9.2.2.4. Deslocamento do solvente	39
3.9.2.2.5. Emulsificação-difusão	39
3.9.2.2.6. Nano-emulsificação por métodos de baixa energia.....	40
3.9.3. Problemas de produção e estabilidade de nanopartículas lipídicas sólidas.....	43
3.9.3.1. Polimorfismo lipídico	43
3.9.3.2. Gelação	44
3.9.4. Aplicações de nanopartículas lipídicas sólidas	45
3.9.4.1. Aplicações cosméticas	45
3.9.4.2. Aplicações em cabelos	48
4. PREPARAÇÃO DE PARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS POR <i>SPRAY COOLING</i>	51
4.1. MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1.1. Materiais	51
4.1.1.1. <i>Activeshine Amazon</i>	51
4.1.1.2. Cera de carnaúba (Tipo I)	51

4.1.1.3. Cera de silicone	52
4.1.1.4. Microparafina	52
4.1.2. Métodos	53
4.1.2.1. Preparação das misturas lipídicas para caracterização por difração de raios-X e DSC	53
4.1.2.2. Preparação das micropartículas lipídicas sólidas.....	53
4.1.2.3. Planejamento estatístico de experimentos	55
4.1.2.3.1. Ensaios preliminares	55
4.1.2.3.2. Ensaios para a construção do planejamento estatístico	55
4.1.2.3.3. Ensaios para ajuste ao modelo quadrático.....	56
4.1.2.3.4. Análise estatística	57
4.1.2.4. Caracterização das ceras, misturas e partículas lipídicas	57
4.1.2.4.1. Comportamento térmico por DSC	58
4.1.2.4.2. Difração de raios-X	61
4.1.2.4.3. Diâmetro médio das micropartículas lipídicas sólidas.....	63
4.1.2.4.4. Morfologia	64
4.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.2.1. Caracterização das misturas	65
4.2.1.1. Comportamento térmico na fusão e cristalização (DSC).....	65
4.2.1.2. Difração de raios-X de grande ângulo (WAXS)	67
4.2.2. Experimentos preliminares – produção de micropartículas lipídicas sólidas por <i>Spray cooling</i>	70
4.2.2.1. Avaliação da influência da concentração da cera e da pressão do ar de atomização	70
4.2.2.2. Estudo da influência da pressão do ar de atomização no diâmetro das micropartículas	73
4.2.3. Planejamento de experimentos	74
4.2.3.1. Modelo linear	74
4.2.3.1.1. Significância estatística das variáveis no processo de preparação das partículas lipídicas.....	74
4.2.3.1.2. Construção do modelo.....	76

4.2.3.1.3.Avaliação da qualidade do ajuste do modelo.....	78
4.2.3.1.3.1.Análise da variância.....	78
4.2.3.1.3.2. Comparação das respostas observadas com os valores previstos pelo modelo	79
4.2.3.1.4. Superfície de resposta - Modelo linear.....	81
4.2.3.2. Ajuste para modelo quadrático	81
4.2.3.2.1.Avaliação da qualidade do ajuste do modelo	84
4.2.3.2.1.1.Análise da variância	84
4.2.3.2.1.2. Comparação das respostas observadas com os valores previstos pelo modelo.....	86
4.2.3.2.2. Superfície de resposta - Modelo quadrático	87
4.2.3.2.2.1. Cera de silicone	87
4.2.3.2.2.2. Parafina.....	88
4.2.4. Caracterização das partículas	89
4.2.4.1. Microscopia ótica	89
4.2.4.2. Comportamento térmico na fusão (DSC).....	93
4.2.4.3.Difração de raios-X.....	94
4.2.4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	97
5. PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS VIA INVERSÃO DE FASE.....	101
5.1. MATERIAIS E MÉTODOS	101
5.1.1. Materiais	101
5.1.1.1. Tensoativos	101
5.1.1.1.1. Óleo de mamona PEG-40.....	101
5.1.1.1.2. Polisorbato 60	102
5.1.1.1.3. Caprilil/capril glicosídeo	102
5.1.1.1.4. Decil glucosídeo	103
5.1.1.1.5. Álcool ceto-estearílico 20 OE	103
5.1.1.1.6. Poligliceril-3-metilglicose diestearato	104
5.1.1.2. Sorbitol	104

5.1.1.3. Geogard 221	104
5.1.1.4. N-Lauroil lisina	105
5.1.1.5. Quaternários de amônio	106
5.1.2. Métodos	106
5.1.2.1. Determinação da inversão de fase	106
5.1.2.2. Preparação das nanopartículas lipídicas sólidas	107
5.1.2.2.1. Efeito da concentração do tensoativo etoxilado	108
5.1.2.2.2. Efeito da concentração do sorbitol	109
5.1.2.2.3. Efeito da variação da concentração do tensoativo, com concentração constante do sorbitol.....	110
5.1.2.2.4. Efeito do tipo de tensoativo	110
5.1.2.2.5. Efeito da concentração de lipídios	111
5.1.2.2.6. Efeito da ordem de adição das fases aquosa e oleosa	111
5.1.2.2.7. Efeito da influência da incorporação da N-Lauroil lisina e quaternários de amônio.....	112
5.1.2.2.8. Estabilidade das partículas compostas por N-Lauroil lisina e quaternários de amônio	113
5.1.2.2.9. Efeito da adição do quaternário de amônio	114
5.1.2.2.10. Efeito da concentração dos quaternários de amônio	115
5.1.2.3. Caracterização das nanopartículas lipídicas sólidas.....	116
5.1.2.3.1. Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersidade, por espectroscopia de correlação de fótons (PCS)	116
5.1.2.3.2. Potencial zeta	119
5.1.2.3.3. Comportamento térmico na fusão	121
5.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	123
5.2.1. Determinação da inversão de fase.....	123
5.2.2. Efeito da concentração do tensoativo etoxilado	127
5.2.3. Efeito da concentração do sorbitol	130
5.2.4. Efeito da variação da concentração do tensoativo na presença do sorbitol	133
5.2.5. Efeito do tipo de tensoativo	136

5.2.6. Efeito da concentração de lipídios	137
5.2.7. Efeito da ordem de adição das fases aquosa e oleosa, no processo de emulsificação..	142
5.2.8. Efeito da incorporação na formulação da lauroil lisina e quaternários de amônio	143
5.2.9. Avaliação da estabilidade das partículas compostas por lauroil lisina e quaternários de amônio	148
5.2.10. Efeito da etapa de adição do quaternário de amônio no processo	151
5.2.11. Efeito da concentração dos quaternários de amônio	152
5.2.12. Caracterização das nanopartículas	153
5.2.12.1. Comportamento térmico na fusão (DSC)	153
6. CONCLUSÕES	157
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	161
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163
9. ANEXOS	177
9.1. Anexo I	177
9.2. Anexo II	178

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química dos triglicerídeos	7
Figura 2: Estrutura química dos constituintes de uma cera.....	13
Figura 3: Estrutura química de um éster de cera.....	14
Figura 4: Estrutura da fibra capilar, ilustrando a cutícula, córtex e medula.....	19
Figura 5: Ligações químicas presentes na queratina.....	21
Figura 6: Depósito de condicionador catiônico sobre a superfície da cutícula carregada negativamente.....	21
Figura 7: Reflexão difusa (D) e especular (S)	22
Figura 8: Modelos para incorporação de ativos em SLN.....	30
Figura 9: Modelos para incorporação de ativos em NLC.....	31
Figura 10: Estrutura química da cera de silicone.....	52
Figura 11: Diagrama esquemático do equipamento <i>Spray cooling</i> utilizado para os testes de formação de partículas.....	54
Figura 12: Planejamento estrela para 2 fatores.....	56
Figura 13: Representação esquemática do sistema DSC de fluxo de calor.....	58
Figura 14: Representação esquemática da difração de raios-X.....	61
Figura 15: Termogramas (DSC) da cera de carnaúba e suas misturas lipídicas com <i>Activeshine Amazon</i> nas proporções de 30, 50 e 70%	65
Figura 16: Termogramas (DSC) da cera de silicone e suas misturas lipídicas com <i>Activeshine Amazon</i> nas proporções de 30, 50 e 70%.....	66
Figura 17: Termogramas (DSC) da parafina e suas misturas lipídicas com <i>Activeshine Amazon</i> nas proporções de 30, 50 e 70%.....	66
Figura 18: Difrátogramas da cera de carnaúba e suas misturas lipídicas com <i>Activeshine Amazon</i> nas proporções de 30, 50 e 70%.....	68
Figura 19: Difrátogramas da cera de silicone e suas misturas lipídicas com <i>Activeshine Amazon</i> nas proporções de 30, 50 e 70%.....	69
Figura 20: Difrátogramas da parafina e suas misturas lipídicas com <i>Activeshine Amazon</i> nas proporções de 30, 50 e 70%.....	69
Figura 21: Diâmetro médio de partículas de cera de carnaúba e <i>Activeshine Amazon</i> , em função	

da pressão do ar de atomização e concentração da cera.....	70
Figura 22: Diâmetro médio de partículas de cera de silicone e <i>Activeshine Amazon</i> em função da pressão do ar de atomização e concentração da cera.....	71
Figura 23: Diâmetro médio de partículas de parafina e <i>Activeshine Amazon</i> , em função da pressão do ar de atomização e concentração de cera.....	71
Figura 24: Diâmetro médio de partículas contendo cera de carnaúba e <i>Activeshine Amazon</i> em função da concentração da cera e pressão do ar constante em 20 psi.....	72
Figura 25: Diâmetro médio de partículas contendo cera de silicone e <i>Activeshine Amazon</i> em função da concentração da cera e pressão do ar constante em 20 psi.....	72
Figura 26: Diâmetro médio de partículas contendo parafina e <i>Activeshine Amazon</i> em função da concentração da parafina e pressão do ar constante em 20 psi.....	73
Figura 27: Diâmetro médio de partículas obtidas com 100% de cera de carnaúba em função da pressão do ar de atomização.....	74
Figura 28: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação das partículas preparadas com cera de carnaúba, considerando modelo linear.....	75
Figura 29: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação das partículas preparadas com cera de silicone, considerando modelo linear.....	76
Figura 30: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação das partículas preparadas com parafina, considerando modelo linear	76
Figura 31: Comparação dos valores previstos do modelo com os valores observados, para as partículas preparadas com cera de carnaúba.....	80
Figura 32: Comparação dos valores previstos do modelo com os valores observados, para as partículas preparadas com cera de silicone.....	80
Figura 33: Comparação dos valores previstos do modelo com os valores observados, para as partículas preparadas com parafina.....	80
Figura 34: Superfície de resposta para o tamanho de partículas obtidas por <i>Spray cooling</i> para a cera de carnaúba, em função da concentração da cera e da pressão do ar de atomização	81
Figura 35: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação para o modelo quadrático estimados para as partículas preparadas com cera de silicone.....	83
Figura 36: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação para o modelo quadrático	

estimados para as partículas preparadas com parafina.....	83
Figura 37: Comparação das previsões do modelo quadrático com os valores observados, para as partículas preparadas com cera de silicone.....	86
Figura 38: Comparação das previsões do modelo quadrático com os valores observados, para as partículas preparadas com parafina.....	86
Figura 39: Superfície de resposta para o diâmetro de partículas obtidas com cera de silicone, em função da concentração da cera e da pressão do ar.....	87
Figura 40: Curvas de níveis para o diâmetro de partículas obtidas com cera de silicone, em função da concentração da cera e da pressão do ar.....	88
Figura 41: Superfície de resposta para o diâmetro de partículas obtidas com parafina, em função da concentração da cera e da pressão do ar.....	88
Figura 42: Curvas de níveis para o diâmetro de partículas de parafina, em função da concentração da cera e da pressão do ar.....	89
Figura 43: Microscopia ótica das partículas obtidas com cera de carnaúba a 20 psi.....	90
Figura 44: Microscopia ótica das partículas obtidas com cera de silicone a 20 psi.....	91
Figura 45: Microscopia ótica das partículas obtidas com parafina a 20 psi.....	92
Figura 46: Termogramas (DSC) das micropartículas de parafina, cera de silicone e cera de carnaúba com <i>Activeshine Amazon</i> , a 50% e 70%.....	94
Figura 47: Difrátogramas (WAXS) das micropartículas de cera de carnaúba, cera de silicone e parafina, com <i>Activeshine Amazon</i> , na proporção de 50%.....	96
Figura 48: Difrátogramas (WAXS) das micropartículas de cera de carnaúba, cera de silicone e parafina com <i>Activeshine Amazon</i> , na proporção de 70%.....	97
Figura 49: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas lipídicas sólidas com 100% cera de carnaúba e 70% cera de carnauba.....	98
Figura 50: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas lipídicas sólidas com 100% cera de silicone e 70% cera de silicone.....	98
Figura 51: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas lipídicas sólidas com 100% parafina e 70% parafina.....	99
Figura 52: Estrutura química do polisorbato 60.....	102
Figura 53: Estrutura química do caprilil/capril glicosídeo.....	103
Figura 54: Estrutura química do decil glicosídeo.....	103

Figura 55: Estrutura química do sorbitol.....	104
Figura 56: Estrutura química do álcool benzílico e do ácido dehidroacético	105
Figura 57: Estrutura química da N-lauroil lisina	105
Figura 58: Estrutura cristalina da N-lauroil lisina.....	105
Figura 59: Estrutura química dos quaternários de amônio CTAC, BTAC e SDBAC.....	106
Figura 60: Fluxograma do processo de preparação das nanopartículas lipídicas sólidas, por inversão de fase por temperatura (PIT).....	109
Figura 61: Fluxograma dos processos de emulsificação com a incorporação da N-Lauroil lisina e quaternário de amônio, utilizados para a preparação das partículas lipídicas sólidas	113
Figura 62: Fluxograma do processo 1. Adição do CTAC antes da formação das partículas.....	114
Figura 63: Fluxograma do processo 2. Adição do CTAC após a formação das partículas	115
Figura 64: Função correlação da intensidade espalhada em função do tempo.....	118
Figura 65: Gráfico típico de distribuição de tamanho.....	118
Figura 66: Representação esquemática do potencial zeta	120
Figura 67: Resultados de condutividade, no aquecimento, das formulações: (1) sem sorbitol, (2) com 4% de sorbitol, (3) com 8% de sorbitol, e (4) com 8% de sorbitol + 0,60% de CTAC.....	123
Figura 68: Influência da temperatura, sobre morfologia do tensoativo, organização da micela e tipo de emulsão.....	124
Figura 69: Mudanças da curvatura da emulsão durante o processo de inversão de fases por temperatura, com a elevação da temperatura.....	125
Figura 70: Processo de formação das nanopartículas pelo processo de inversão de fases por temperatura (PIT), com a diminuição da temperatura.....	126
Figura 71: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função da concentração do tensoativo óleo de mamona PEG-40, sem a presença de sorbitol	128
Figura 72: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas na formulação 6 (20% óleo de mamona PEG-40, sem sorbitol).....	129
Figura 73: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas na formulação 1 (10% óleo de mamona PEG-40, sem sorbitol).....	129

Figura 74: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas na formulação 5 (5% de óleo de mamona PEG-40, sem sorbitol).....	130
Figura 75: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função da concentração de sorbitol, na presença de 5% óleo de mamona PEG-40 (Formulações 5, 7 e 8).....	131
Figura 76: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 7 (4% de Sorbitol)...	132
Figura 77: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 8 (8% de Sorbitol)..	133
Figura 78: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função da concentração de óleo e mamona PEG-40, na presença de Sorbitol (Formulações 3, 8, 9 e 10).....	133
Figura 79: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 3 (10% de óleo de mamona PEG-40 e 8% de sorbitol).....	134
Figura 80: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 10 (4% de óleo de mamona PEG-40 e 8% de sorbitol).....	135
Figura 81: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 9 (3% de óleo de mamona PEG-40 e 8% de sorbitol).....	136
Figura 82: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função do tipo de tensoativo (Formulações 8, e 11 a 15).....	137
Figura 83: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade da dispersão de nanopartículas em função da concentração de lipídios (Formulações 3, 16 e 17).....	138
Figura 84: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas sem choque térmico, com a formulação 3 (20% de lipídios).....	139
Figura 85: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas sem choque térmico, com a formulação 16 (30% de lipídios).....	140
Figura 86: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com choque térmico, com a formulação 16 (30% de lipídios).....	140
Figura 87: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas sem choque térmico, com a formulação 17 (40% de lipídios).....	141
Figura 88: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com choque térmico, com a formulação 17 (40% de lipídios).....	142
Figura 89: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função do	

processo de emulsificação utilizado. Formulação 8.....	142
Figura 90: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas das formulações 3, e 18 a 25, contendo 1% de lauroil lisina e 1% de quaternários de amônio.....	143
Figura 91: Variação do potencial zeta da dispersão de nanopartículas das formulações 3, e 18 a 25, contendo 1% de lauroil lisina e 1% de quaternários de amônio.....	144
Figura 92: Potencial zeta das formulações 3, 18 e 22 (a: sem lauroil lisina; b: lauroil lisina dispersa na fase oleosa, e c: lauroil lisina dispersa na fase aquosa).....	145
Figura 93: Potencial zeta das formulações 19 a 21, contendo lauroil lisina dispersa na fase oleosa e os quaternários de amônio.....	146
Figura 94: Potencial zeta das formulações 23 a 25, contendo lauroil lisina dispersa na fase aquosa alcalina e os quaternários de amônio.....	147
Figura 95: Resultados de estabilidade de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 19, contendo lauroil lisina e CTAC, após 120 dias.....	148
Figura 96: Resultados de estabilidade de potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 19, contendo lauroil lisina e CTAC, após 120 dias.....	149
Figura 97: Resultados de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas a partir da formulação 20, contendo lauroil lisina e BTAC, após 120 dias.....	149
Figura 98: Resultados de potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 20, contendo lauroil lisina e BTAC, após 120 dias.....	150
Figura 99: Resultados de estabilidade de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 21, contendo lauroil lisina e SDBAC, após 120 dias.....	150
Figura 100: Resultados de estabilidade de potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 21, contendo lauroil lisina e SDBAC, após 120 dias.....	151
Figura 101: Resultados de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas com as formulações 26 e 27, compostas por 0,50% de lauroil lisina e 1,20% de CTAC.....	152
Figura 102: Efeito da concentração dos quaternários de amônios (CTAC, BTAC e SDBAC) sobre o diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir das formulações 28 a 39.....	152

Figura 103: Efeito da concentração dos quaternários de amônios (CTAC, BTAC e SDBAC) no potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das formulações 28 a 39.....	153
Figura 104: Termogramas (DSC) da dispersão de nanopartículas com BTAC.....	154
Figura 105: Termogramas (DSC) da dispersão de nanopartículas com CTAC.....	155
Figura 106: Termogramas (DSC) da dispersão de nanopartículas com SDBAC.....	155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Uso cosmético de óleos e gorduras vegetais.....	10
Tabela 2: Estruturas tridimensionais da ordem cristalina de triacilgliceróis.....	43
Tabela 3: Variáveis utilizadas no planejamento fatorial 2x2 com seus respectivos níveis	55
Tabela 4: Planejamento fatorial 2x2, com três pontos centrais.....	55
Tabela 5: Níveis para o planejamento fatorial estrela, 2x2 com ponto central e com pontos axiais (-1,414, +1,414), realizados para a cera de silicone e parafina.....	56
Tabela 6: Planejamento Fatorial 2x2, tipo estrela, contendo os pontos axiais.....	57
Tabela 7: Diâmetro de partículas obtido a partir das ceras de carnaúba, silicone e parafina, considerando modelo linear.....	75
Tabela 8: Efeitos principais e de interação obtidos a partir das partículas preparadas com as ceras de carnaúba, silicone e parafina, considerando modelo linear.....	75
Tabela 9: Resultados da regressão do modelo linear para as partículas obtidas com os três tipos de ceras (carnaúba, silicone e parafina) e <i>Activeshine Amazon</i>	77
Tabela 10: Análise da variância pelo método dos quadrados mínimos, considerando modelo linear para as partículas obtidas com cera de carnaúba, cera de silicone e parafina.....	78
Tabela 11: Valores obtidos para as razões das médias quadráticas para avaliação da qualidade do modelo, comparativos aos valores tabelados de F, para as partículas obtidas com as ceras de carnaúba, silicone e parafina, considerando o modelo linear.....	78
Tabela 12: Resultados do planejamento fatorial 2x2, tipo estrela, contendo os pontos axiais, para as partículas preparadas com cera de silicone e parafina.....	82
Tabela 13: Resultados dos efeitos principais e de interação para o modelo quadrático, das partículas obtidas com cera de silicone e parafina e <i>Activeshine Amazon</i>	82
Tabela 14: Resultados da regressão do modelo quadrático para as partículas obtidas com as ceras de silicone e parafina.....	84
Tabela 15: Análise da variância pelo método dos quadrados mínimos, considerando modelo quadrático para as partículas obtidas com cera de silicone e parafina.....	85
Tabela 16: Valores obtidos para as razões das médias quadráticas para avaliação da qualidade do modelo, comparativos aos valores tabelados de F, para as partículas obtidas com	

as ceras de silicone e parafina, considerando o modelo quadrático.....	85
Tabela 17: Formulações realizadas para determinação da inversão de fase pela temperatura, por medidas de condutividade.....	107
Tabela 18: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração do tensoativo etoxilado, óleo de mamona peg-40, na ausência do poliálcool sorbitol.....	108
Tabela 19: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração do poliálcool, sorbitol.....	109
Tabela 20: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração do tensoativo etoxilado, óleo de mamona peg-40, na presença do poliálcool, sorbitol.....	110
Tabela 21: Formulações realizadas para avaliação do tipo de tensoativo.....	111
Tabela 22: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração dos lipídios.....	111
Tabela 23: Formulações realizadas para avaliação do efeito da incorporação da N-lauroil lisina e quaternários de amônio.....	112
Tabela 24: Formulações realizadas para avaliação do efeito da etapa de adição do quaternário de amônio.....	114
Tabela 25: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração dos quaternários de de amônio.....	116
Tabela 26: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas com as formulações 8, e 11 a 15, contendo os vários tipos de de tensoativos.....	137
Tabela 27: Diâmetro médio de partículas em função da variação da concentração da cera e pressão do ar de atomização	177
Tabela 28: Diâmetro médio de partículas obtidas com 100% de cera de carnaúba, em função da pressão do ar de atomização.....	177
Tabela 29: Valores de condutividade obtidos durante o processo de emulsificação, na etapa de de aquecimento das formulações 1 a 4. Formulação (1), sem sorbitol; formulação (2), com 4% de sorbitol; formulação (3), com 8% de sorbitol e formulação (4), com 8% de sorbitol e 0,60% de CTAC.....	178
Tabela 30: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas nas formulações 1, 5 e 6, contendo diferentes concentrações de óleo de mamona PEG-40, sem a presença de sorbitol.....	178

Tabela 31: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas nas formulações 5, 7 e 8, contendo diferentes concentrações de sorbitol, na presença de 5% óleo de mamona PEG-40.....	179
Tabela 32: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas com as formulações 3, 8, 9 e 10, contendo diferentes concentrações de óleo de mamona PEG-40, na presença de 8% de sorbitol.....	179
Tabela 33: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas com as formulações 3, 16 e 17, onde variou-se a concentração dos lipídios, e manteve-se fixa a proporção de lipídios/tensoativos (2:1).....	179
Tabela 34: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas em função do processo de emulsificação utilizado (Formulação 8).179	
Tabela 35: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número), polidispersidade e potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das formulações 3, e 18 a 25, contendo lauroil lisina e quaternários de amônio (CTAC, BTAC e SDBAC).....	180
Tabela 36: Resultados de polidispersidade (PDI), diâmetro médio (DM) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 19, contendo lauroil lisina e CTAC, após 120 dias.....	180
Tabela 37: Resultados de polidispersidade (PDI), diâmetro médio (DM) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 20, contendo lauroil lisina e BTAC, após 120 dias.....	180
Tabela 38: Resultados de polidispersidade (PDI), diâmetro médio (DM) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 21, contendo lauroil lisina e SDBAC, após 120 dias.....	181
Tabela 39: Resultados de polidispersidade e diâmetro médio, das nanopartículas obtidas a partir da formulação 26 (sem CTAC) e 27, contendo lauroil lisina e CTAC. Avaliação da influência da etapa de adição do quaternário de amônio (CTAC) sobre a formação das partículas.....	181
Tabela 40: Resultados de polidispersidade, diâmetro médio e potencial zeta das nanopartículas em função da concentração dos quaternários (CTAC, BTAC e SDBAC), obtidas a partir das formulações 28 a 42.....	181

NOMENCLATURA

BTAC: Cloreto de behenil trimetil amônio ou cloreto de behentrimônio

CTAC: Cloreto de cetil trimetil amônio ou cloreto de cetrimônio

D: Coeficiente de difusão

D_H : Diâmetro hidrodinâmico

DM: Diâmetro médio

DLS: Espalhamento de luz dinâmico

DP: Desvio Padrão

DSC: Calorimetria Diferencial de Varredura

FPS: Fator de Proteção Solar

GRAS: Geralmente reconhecido como seguro

HLB: Balanço hidrofílico-lipofílico

HPH: Homogenização por alta pressão

IC: Índice de cristalinidade

LDC: Nanopartículas de drogas conjugadas

LS: N-Lauroil lisina

MMP-1: Metaloproteinases tipo 1

MPS: Sistema mononuclear fagocitário

MQ_R : Média quadrática da regressão

MQ_r : Média quadrática dos resíduos

MQ_{faj} : Média quadrática da falta de ajuste

MQ_{ep} : Média quadrática do erro puro

NP: Nanopartícula

NLC: Carreador lipídico nanoestruturado

O/W: Emulsão óleo em água

PCS: Espectroscopia por correlação de fótons

PDI: Polidispersidade

PIT: Temperatura de inversão de fase

PZ: Potencial zeta

q.s.p. 100: Quantidade suficiente para 100%

SAXS: Difração de raio-X de pequeno ângulo

SFC: Fluido supercrítico

SLN: Nanopartículas lipídicas sólidas

SDBAC: Cloreto de estearil dimetilbenzil amônio ou Cloreto de esteralcônio

T: Temperatura absoluta

T_{cd} : Temperatura de diluição do resfriamento

WAXS: Difração de raio-X de largo ângulo

W/O: Emulsão água em óleo

κ : constante de Boltzmann

μm : micrômetro

η : viscosidade da solução dispersante

1. INTRODUÇÃO

A área cosmética tem evidenciado uma clara tendência, a partir da década de 1990, em desenvolver produtos mais eficazes. A eficácia de qualquer produto contendo um ingrediente funcional é determinada por dois fatores: a atividade intrínseca da molécula ativa, assim como a ativação ou liberação desta molécula no seu sítio de ação (Wiechers, 2008).

O desenvolvimento de formulações contendo partículas ou carreadores lipídicos de dimensões micro ou nanométricas, possibilita que esta funcionalidade seja atingida, estando cada vez mais presente na área cosmética (Fronza et al, 2007). O interesse pelo uso destas formulações no desenvolvimento de produtos cosméticos reside na possibilidade da melhoria da eficácia e seletividade de ação, tais como: proteção dos ativos contra degradação química, aumento da hidratação cutânea e do FPS, modulação da permeação de ativos cosméticos ou ainda no direcionamento a um sítio específico de ação (Müller et al, 2002a; Wissing e Muller, 2003; Souto, 2005; Guterres et al, 2007; Müller et al, 2007; Wiechers, 2008; Pardeike et al, 2009).

As partículas lipídicas sólidas, representam o conceito mais moderno de carreadores lipídicos e foram derivadas a partir de emulsões o/w, onde simplesmente trocou-se o lipídeo líquido (óleo) por um lipídeo sólido ou misturas de lipídios sólidos à temperatura ambiente. Estes carreadores lipídicos têm sido propostos como sistemas coloidais de liberação controlada, alternativos aos outros sistemas carreadores nanoestruturados, tais como: nanoemulsões, nanopartículas poliméricas e lipossomas (Müller e Souto, 2005; Souto, 2005; Rawat et al, 2006; Guterres et al, 2007; Chambi et al, 2008; Wiechers, 2008). Entre as vantagens destas partículas lipídicas, estão: a matriz lipídica é composta por lipídios biocompatíveis que diminuem o perigo de toxicidade aguda e crônica; a proteção de substâncias sensíveis a degradação química; o controle de liberação dos ativos; a facilidade de escalonamento de produção; além do baixo custo, e uso de processos que não necessitam da utilização de solventes orgânicos (Mehnert e Mader, 2001; Müller et al, 2002a; Müller e Souto, 2005).

Lipídios têm sido utilizados com sucesso como matérias-primas na preparação de partículas lipídicas para encapsulação de diversos bioativos cosméticos e fármacos (Müller e Souto, 2005; Souto, 2005; Müller et al, 2007; Wiechers, 2008; Pardeike et al, 2009). Há uma

grande diversidade de lipídios naturais e sintéticos, na sua grande maioria biocompatíveis para o projeto e produção destas partículas (Mehnert e Mader, 2001; Müller e Souto, 2005).

As primeiras micropartículas preparadas com materiais lipídicos sólidos foram descritas por Speiser e colaboradores, no início dos anos 80. O mesmo autor, patenteou em 1990, a produção de nanoesferas (nanopellets) lipídicas para administração peroral, pela técnica de atomização e cristalização por congelamento (conhecida como *spray chilling*, *spray cooling* ou *spray congealing*). Em geral esta técnica produz misturas de micro e nanopartículas lipídicas. (Eldem et al, 1991; Müller et al, 2000; Mehnert e Mader, 2001; Müller e Souto, 2005; Souto, 2005).

O processo de produção de partículas por *spray cooling*, é considerado do tipo alta energia, e inicia-se com a preparação de uma emulsão, ou então, uma mistura fundida dos lipídios, contendo o ativo disperso. A próxima etapa do processo consiste na atomização da emulsão ou mistura de lipídios dentro de uma câmara mantida à baixa temperatura (0 – 10 °C). Em contato com o ar frio, as gotas atomizadas congelam e recristalizam formando partículas esféricas que são coletadas na forma de pó (Eldem et al, 1991; Jannin et al, 2008).

Atualmente, a técnica de *spray cooling* tem recebido especial atenção na possibilidade de produzir partículas lipídicas sólidas para liberação sustentada, em virtude da ausência de solventes orgânicos. O caráter lipofílico/ hidrofílico do carreador determina o perfil de liberação do ativo. O desempenho do processo depende da eficiência de atomização da mistura, que pode ser realizada por diferentes tipos de atomizadores, tais como, rotatório ou centrífugo, duplo fluído, pneumáticos ou ultrassônico (Albertini et al, 2008). Geralmente estes tipos de atomizadores conduzem a uma larga distribuição de tamanho (50 – 600 µm), bem como dificuldades na atomização de fluídos viscosos. Recentemente, Albertini et al (2008) desenvolveram um novo atomizador do tipo pneumático onde foi possível contornar estas dificuldades com sucesso.

As nanopartículas lipídicas sólidas têm sido produzidas por diversas técnicas de alta e baixa energia, descritas na literatura, tais como: homogeneização por alta pressão à quente e à frio, evaporação/ emulsificação-evaporação do solvente, emulsificação-difusão do solvente, injeção do solvente (ou deslocamento do solvente), emulsão múltipla, ultrassonicação, contractor

de membrana, microemulsão e nanoemulsão por inversão de fase (Mehnert e Mader, 2001; Heurtault et al, 2002; Souto e Muller, 2005; Souto, 2005, Pardeike et al, 2009).

Recentemente, Anton et al (2008), propuseram a existência de uma ligação entre os métodos de produção de nanoemulsão e a geração de nanopartículas lipídicas. Os sistemas de nanoemulsões são, portanto, considerados como precursores das nanopartículas lipídicas sólidas (Heurtault et al, 2002; Gutiérrez et al, 2008). Nanoemulsões são sistemas em não-equilíbrio, e para a sua formação requerem energia a partir de equipamentos mecânicos ou então a partir de propriedades físico-químicas do sistema. Os métodos usando energia mecânica, são conhecidos como alta energia, e utilizam equipamentos específicos, tais como: homogenizadores por alta pressão, microfluidizadores e geradores de ultrassom. Os métodos que utilizam as propriedades físico-químicas do sistema, são chamados de condensação ou de baixa energia, tais como: emulsificação espontânea e inversão de fase por temperatura ou pela composição (Tadros et al, 2004; Sadurni et al, 2005; Solans et al, 2005; Pey et al, 2006; Anton et al, 2008; Maestro et al, 2008).

O método da temperatura de inversão de fase pela temperatura (PIT), foi introduzido por Shinoda e Saito (1968) e usa as propriedades específicas de surfactantes polietoxilados em função da temperatura. A baixa temperatura a camada de surfactante tem uma curvatura espontânea positiva formando microemulsões o/w. A altas temperaturas, a curvatura espontaneamente torna-se negativa e forma-se microemulsão w/o. Em temperaturas intermediárias, a curvatura espontaneamente torna-se próxima de zero e uma fase bicontinua forma-se. O método de emulsificação por PIT, utiliza-se do fato que tensões interfaciais extremamente baixas são atingidas na temperatura de HLB. Pelo resfriamento rápido, instabilidades são criadas na rede da microemulsão, resultando em sua quebra para nanoemulsão, obtendo-se partículas com tamanho reduzido e com estreita distribuição (Izquierdo et al, 2005; Solans et al, 2005; Calderon et al, 2007; Anton et al, 2008; Ee et al, 2008).

Este trabalho apresenta um estudo sistemático de processos de produção de micro e nanopartículas lipídicas sólidas para aplicação em cosméticos capilares. O estudo é apresentado em duas partes, enfocando na primeira a produção de micropartículas lipídicas através da técnica de *spray cooling* com avaliação das variáveis operacionais, pressão do ar de atomização e concentração de cera, sobre o diâmetro médio das partículas, sendo proposto um modelo para

cada processo. Na segunda parte é apresentada a produção de nanopartículas, via nano-emulsificação por baixa energia, sendo utilizado o método por inversão de fase por temperatura.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi estudar a produção escalonável de micropartículas lipídicas sólidas com diâmetro inferior a 300 micrômetros e de nanopartículas lipídicas sólidas com diâmetro inferior a 200 nm, pelos processos de *spray cooling* e nano-emulsificação por inversão de fase por temperatura, utilizando-se como matérias-primas, ceras naturais de origem vegetal (cera de carnaúba), mineral (microparafina) e sintética (cera de silicone) como lipídeo estrutural ou carreador, e triglicerídeos vegetais de murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e babaçú (*Orbygnia speciosa*) como componente ativo e estrutural. Estas partículas são úteis para aplicação cosmética capilar, com potencial para proporcionar brilho, maciez e penteabilidade aos cabelos.

O estudo da preparação de micropartículas lipídicas sólidas por *spray cooling*, envolveu as seguintes etapas:

- Caracterização das misturas lipídicas compostas por triglicerídeos vegetais e ceras vegetais e sintéticas, por Calorimetria diferencial de varredura (DSC) e Difração de Raios-X.
- Estudo da influência das condições operacionais sobre o diâmetro médio das partículas, no processo de atomização por *spray cooling*.
- Otimização das condições operacionais por planejamento de experimentos e análise de superfície de resposta.
- Caracterização das micropartículas obtidas a partir das misturas lipídicas, por Microscopia ótica, DSC, Difração de Raios-X e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

A preparação das nanopartículas lipídicas sólidas via nano-emulsificação de baixa energia, foi realizada através das seguintes etapas:

- Determinação do ponto de inversão de fase.
- Estudo do efeito dos componentes da formulação, sobre o diâmetro, polidispersidade e potencial zeta das partículas, tais como: concentração e tipo

de tensoativo, concentração do poliálcool, concentração dos lipídios, aditivação com catiônicos.

- Estudo do efeito da ordem de adição das fases aquosa e oleosa na etapa de emulsificação, sobre o diâmetro e polidispersidade.
- Estudo do efeito da concentração do quaternário de amônio sobre o diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta das partículas.
- Estudo da estabilidade das nanopartículas lipídicas sólidas nas condições de estocagem de escuro, estufa (40 - 45 °C) e geladeira (2 - 8 °C), por um período de 120 dias.
- Caracterização da nanopartículas lipídicas sólidas por diâmetro médio hidrodinâmico, potencial zeta, polidispersidade e calorimetria diferencial de varredura.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Óleos e Gorduras

3.1.1. Composição química

Óleos e gorduras podem ser de origem animal ou vegetal, e consistem em uma mistura complexa de diversos lipídios, tais como: ácidos graxos, mono, di e triglicerídeos, fosfolipídios e produtos não-saponificáveis tais como pigmentos, hidrocarbonetos como o esqualeno, esteróis ou vitaminas lipossolúveis como tocoferóis e carotenóides que atuam como antioxidantes naturais contra a rancidez (Alvarez e Rodriguez, 2000; Jannin et al, 2008; Boutin e Badens, 2009).

Os triglicerídeos constituem a parte mais significativa de óleos e gorduras, chegando a atingir até 99% do peso, sendo que a composição dos mesmos pode variar de acordo com as espécies, e o seu uso dependerá do tipo e proporção de ácidos graxos. Os outros componentes lipídicos em menor proporção, determinam em muitos casos suas possíveis atividades cosméticas e farmacêuticas (Alvarez e Rodriguez, 2000; Jannin et al, 2008; Boutin e Badens, 2009).

Os triglicerídeos pertencem à classe dos lipídios simples, e quimicamente, são ésteres de glicerol com três moléculas de ácidos carboxílicos de cadeia longa, conhecidos como ácidos graxos, conforme ilustrado na Figura 1. Sob condições de hidrólise, produzem três moléculas de ácidos graxos e uma de glicerol (Alvarez e Rodriguez, 2000; Christie, 2009a).

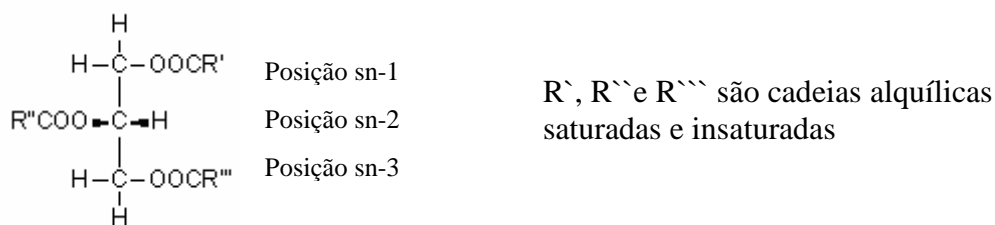


Figura 1: Estrutura química dos triglicerídeos (Fonte: Christie, 2009a).

As gorduras apresentam-se sólidas ou semi-sólidas à temperatura ambiente, enquanto que os óleos são líquidos sob as mesmas condições. As propriedades físico-

químicas dos óleos e gorduras, bem como a sua identidade, são determinadas principalmente pela composição de ácidos graxos dos triglicerídeos. Quando estes são relativamente insaturados, isto é, quando possuem várias ligações duplas ou triplas entre carbonos, o glicerídeo é um óleo, e quando os ácidos graxos são relativamente saturados (muitas ligações simples entre carbonos), o glicerídeo é uma gordura (Christie, 2009a).

3.1.2. Óleos e gorduras da Amazônia

A Amazônia destaca-se com a sua enorme diversidade de espécies oleaginosas, fontes de óleos vegetais, como o babaçú, murumuru, andiroba, castanha do pará, cupuaçu, cacau, buriti, pequi, tucumã, bacaba, pataúá, andiroba, copaíba, entre outros (Franquilino, 2006). Os óleos amazônicos têm sido bastante utilizados no setor cosméticos, pois além de proporcionarem um excelente apelo de marketing, por serem oriundos da biodiversidade da Amazônia, podem proporcionar propriedades únicas para as formulações cosméticas.

O óleo de babaçu é extraído das amêndoas contidas no coco da palmeira do gênero *Orbignya*, de duas espécies: *Orbignya oleifera* e *martiniana*. Constituinte cerca de 60-70% do peso da amêndoa, esse óleo é utilizado para a fabricação de sabão e detergentes biodegradáveis, glicerina e óleo comestível. Possui um ponto de fusão muito baixo (25,5 °C), o que o faz adquirir uma consistência branco-leitosa, como uma pasta, em dias frios. Esta sua característica está associada ao seu alto teor de ácido láurico (superior a 40%), sendo este o principal componente responsável pelas suas qualidades terapêuticas, tais como anti-séptico e cicatrizante. O óleo de babaçu pode ser indicado na alimentação de pessoas com baixa resistência imunológica, pessoas com doenças viróticas e bacterianas como tuberculose, pneumonia, herpes, e doenças auto-imune como o lúpus e a psoríase. Possui propriedades antivirais e antifúngicas, devido ao seu alto teor de ácido cáprico e láurico (Silva et al, 2000; Cosméticos & Perfumes, 2003a; Franquilino, 2006).

A manteiga de murumuru é extraída a partir das amêndoas da espécie *Astrocaryum murumuru*, por um processo de prensagem a frio. A composição química das amêndoas consiste em 3,5% de proteínas, 19% de carboidratos e 16,6% de gordura, além disto, contém quantidade de vitamina A, equivalente a três vezes mais do que a encontrada em cenouras. A composição

química da gordura, é rica em ácidos graxos láurico e mirístico. A gordura, após processamento, é utilizada como matéria-prima no setor alimentício, na industrialização de margarinas, e também no setor cosmético, na fabricação de sabonetes, cremes e xampus (Cosméticos & Perfumes, 2003b).

O óleo da castanha do Pará é extraído das castanhas da espécie *Bertholletia excelsa*, por prensagem. O óleo claro, com odor doce e agradável, é rico em ácido linoleico e possui também em sua composição vitaminas lipossolúveis como a vitamina A e E. Em sua fração insaponificável, contém os fitosteróis, destacando-se o β -Sitosterol, com cerca de 75% de concentração na fração. Também presentes nesta fração, estão os triterpenos. O óleo contém diversos minerais e oligoelementos tais como cálcio, zinco, ferro, sódio e potássio, apresentando também selênio (Cosméticos & Perfumes, 2003a).

A manteiga de cupuaçu é extraída por prensagem das sementes obtidas da polpa do fruto da espécie *Theobroma grandiflorum*. A manteiga é rica em ácidos graxos esteárico e oléico. Contém os fitosteróis β -sitosterol, estigmaesterol e campsterol. Tem alta capacidade de absorção de água, chegando a atingir até 240% do seu peso, sendo superior a da lanolina e de alguns esteróis de origem animal e vegetal (Cosméticos & Perfumes, 2003a).

3.1.2. Óleos e gorduras em cosméticos

Os lipídios são muito utilizados nas formulações cosméticas, sendo que as suas propriedades funcionais, são de grande interesse para os químicos formuladores. Os primeiros agentes condicionantes foram gorduras naturais, óleos e ceras, sendo usados com a finalidade de lubrificar o fio de cabelo, e proporcionar propriedades refletivas (Johnson, 1997).

Os óleos e gorduras são muito utilizados em cosméticos como agentes emolientes e condicionantes. Os emolientes são responsáveis por características importantes de uma emulsão como espalhamento, absorção e sensação tátil ou tato na pele. Podem ser usados para criar efeitos especiais sobre os cabelos, auxiliando a aparência e sua maleabilidade, aumentando seu corpo ou flexibilidade, facilitando o seu estilo ou forma, doando brilho e melhorando a textura que foi danificada pela ação química ou física (Pepe et al, 2002). Portanto, ajudam a reduzir a fricção das fibras e os efeitos abrasivos da escovação, e melhoram a condição do cabelo pelo

nivelamento da superfície escamosa ou cobrindo com material de alto índice de refração, tais como os óleos de silicone (Instituto Racine, 2005a).

Alvarez e Rodriguez (2000) relacionaram os principais lipídios utilizados em cosméticos, que estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Uso cosmético de óleos e gorduras vegetais (Fonte: Alvarez e Rodriguez, 2000)

Produto	Aplicação	Óleo
Cuidado facial	Pele normal	Amêndoas, apricot, avelã, borage e jojoba
	Pele seca a normal	Amêndoas, apricot, abacate, oliva, germe de trigo, borage, jojoba, macadâmia
	Pele normal a oleosa	Amêndoas, apricot, uva, avelã, borage
Cuidado Capilar	Cabelo normal	Amêndoas, borage
	Cabelo Seco	Amêndoas, abacate, borage, manteiga de cacau, jojoba, sesame, macadamia
	Cabelo oleoso	Borage, sesame

O óleo de amêndoas extraído do fruto da *Prunus dulcis* é usado em cosméticos como umectante, sendo indicado para pele excessivamente seca, queimaduras provocadas pelo sol e vento. Este óleo é um bom emoliente por causa de sua distribuição de ácidos graxos altamente insaturados. É usado em formulações infantis, bálsamos labiais e também produz um sabão agradável (Alvarez e Rodriguez, 2000).

O óleo de café, derivado de sementes da *Coffea arábica* tem demonstrado excelentes propriedades para pele e habilidade em bloquear a radiação solar entre 280 – 320 nm, que causa eritema, mas ao mesmo tempo permite a passagem da radiação entre 320 – 400 nm, que bronzeia a pele. Tem sido utilizado como potencializador da proteção solar em produtos cosméticos, capilares e farmacêuticos (Alvarez e Rodriguez, 2000, Barrera-Arellano et al, 2003).

A manteiga de Karite ou Shea butter, é obtida das sementes da *Butyrospermum parkii*, e o seu conteúdo de insaponificáveis é notável em relação a outros óleos. Estes insaponificáveis auxiliam a manter a pele jovem por estimulação do tecido, auxiliando a pele a produzir o seu próprio colágeno. Esta manteiga tem propriedades suavizantes, umectantes, protetora e reestruturante. Os seus efeitos reestruturantes aparecem sobre cabelo seco e frágil. A manteiga de karite também tem atividade sobre a regeneração celular e circulação, favorecendo a cicatrização de pequenas feridas, rachaduras na pele e úlceras cutâneas. Apresenta propriedade de proteção

contra radiação UV, devido ao seu conteúdo de ácido cinâmico, podendo ser incorporado em produtos para proteção solar (Alvarez e Rodriguez, 2000).

O óleo de babaçu extraído das amêndoas da palmeira do gênero *Orbignya*, apresenta em sua composição, ácidos graxos de importância cosmetológica, como os ácidos láurico, e mirístico. Devido ao seu alto teor de ácido láurico, possui alta penetrabilidade nos poros da pele, o que o torna um dos melhores óleos vegetais para uso em massagem. No tratamento do cabelo, age como um silicone natural. Possui uma vantagem especial sobre outros óleos, pois não sofre rancificação. Pode ser utilizado em todo tipo de cosmético, como princípio ativo ou como agente de carga na fase oleosa, sendo indicado em produtos para cuidados da pele, tais como emulsões para limpeza, cremes faciais, leites para o corpo, bálsamo para os lábios ou produtos para cabelos secos e danificados, onde possui ação multifuncional de reparo sensorial e brilho, auxiliando também no reparo de dano da fibra capilar, reestruturando as cutículas do fio de cabelo (Silva et al, 2000; Cosméticos & Perfumes, 2003a; Franquilino, 2006; Lima et al, 2008; Polezel et al, 2008).

A manteiga de murumuru obtida das amêndoas da espécie *Astrocaryum murumuru*, é um excelente emoliente natural, formando uma película protetora que ajuda a pele a reter a umidade. Pode ser utilizada em produtos para cuidado de peles normais a secas, e peles envelhecidas, com ação multifuncional de hidratante, reparo de barreira cutânea e redução da perda de água transepidermica, promovendo a recuperação da elasticidade natural da pele, nutrição e emoliência. Para produtos para cuidados do cabelo, por possuir uma composição de ácidos graxos balanceada, restaura a camada hidrolipídica natural, proporcionando brilho, emoliência, hidratação e proteção aos cabelos. É ideal no tratamento de cabelos sem vida e danificados por processos químicos. Pode ser utilizada em emulsões para pele e cabelo, cremes para o rosto, revigorantes cutâneos, banhos relaxantes, sabonetes líquidos e em barra (Cosméticos & Perfumes, 2003b; Franquilino, 2006; Polezel, 2006; Polezel et al, 2008).

3.2. Ceras

3.2.1. Definição e origem

Segundo Dominguez e Heredia (1998), a palavra cera (wax, em inglês) é derivada do termo anglo-saxão *weax*, o qual era utilizado para descrever o material nos favos de mel. Substâncias similares isoladas de plantas também eram chamadas de ceras.

Atualmente o termo cera tem um significado mais amplo, e geralmente é aplicado a todo sólido e líquido semelhante a cera de abelha encontrados na natureza, e também àquelas substâncias que ocorrem nas mesmas, tais como hidrocarbonetos, ácidos, álcoois e ésteres (Warth, 1947; Christie, 2009b).

As ceras, com relação à sua origem, podem ser classificadas em naturais ou sintéticas. As ceras naturais podem ser obtidas a partir de insetos, animais, vegetais ou minerais.

As ceras de origem vegetal são encontradas como secreção de folhas, caules e frutos, tais como a cera de carnaúba, extraída a partir das folhas da *Copernicia cerifera* encontradas nas regiões secas e áridas do nordeste do Brasil, e a cera de candelila que é extraída das folhas da *Euphorbia cerifera* e *Euphorbia antisiphilitica* encontradas nas regiões desérticas do México (Warth, 1947; Bennett, 1963).

As ceras de insetos podem ser obtidas a partir da secreção de certos insetos depositados nos ramos de árvores, tais como a cera chinesa extraída de insetos da espécie *Coccus ceriferus*. A cera de abelha é secretada pelas abelhas quando as mesmas estão construindo os favos de mel (Warth, 1947; Bennett, 1963).

As ceras de animais podem ser obtidas a partir de animais marinhos, como a cera espermaceti que é extraída do material ceroso presente nas cavidades da cabeça e gordura da baleia da espécie *Physeter macrocephalus* ou então a partir da substância secretada pelas glândulas sebáceas de carneiros da qual se obtém a cera de lã (Warth, 1947; Bennett, 1963).

As ceras minerais podem ser derivadas de petróleo tais como a parafina e microparafina ou de carvão, como a cera lignita e a cera Utah (Warth, 1947; Bennett, 1963).

As ceras sintéticas podem ser obtidas a partir de compostos sintetizados quimicamente que não tem nenhuma relação com ceras naturais em estrutura química, mas são similares a elas nas características físicas. Entre as ceras sintéticas, encontramos os óleos hidrogenados de origem vegetal ou animal, ácidos e álcoois graxos, cetonas, aminas e amidas de alto peso molecular; ceras cloronaftalênicas obtidas a partir da reação de cloração de naftaleno, ceras de silicone, etc (Warth, 1947; Bennett, 1963).

3.2.2. Composição química

Quimicamente, uma cera é constituída por uma mistura complexa de ésteres, hidrocarbonetos de cadeia linear e ramificados, álcoois saturados e insaturados, esteróis, ácidos graxos saturados e insaturados, ácidos dibásicos, mono e di-hidróxi-ácidos, lactonas poliésteres e hidroxí-ésteres de cadeia longa, conforme ilustra a Figura 2. Diferem das gorduras pela ausência de triglicerídeos (Warth, 1947; Bennett, 1963; Christie, 2009b).

Os ésteres e hidroxí-ésteres são os principais componentes das ceras naturais. Na cera de candelila encontra-se entre 30-35% de ésteres com hidroxíácidos, sendo encontrado principalmente o miricil dihidroximiricinoleato. Na cera de carnaúba o teor de ésteres pode chegar a 84-85%, sendo que os principais são: miricil carnaubato, miricil cerotato (75%), ceril cerotato, ceril octacosanato e ceril ω -hidroxíuncosanato.

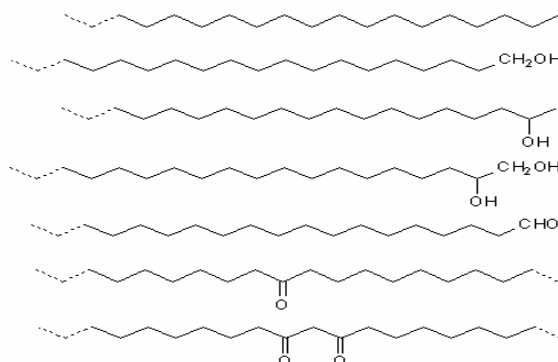


Figura 2: Estrutura química dos constituintes de uma cera (Fonte: Christie, 2009b).

Os ésteres são os principais constituintes de uma cera e são ácidos graxos de cadeia longa ligados com álcoois graxos de cadeia longa, conforme ilustrado na Figura 3.

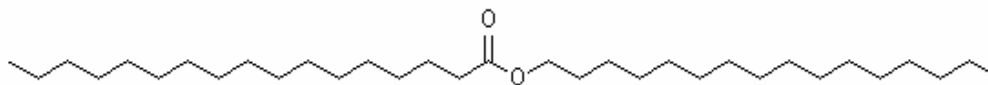


Figura 3: Estrutura química de um éster de cera (Fonte: Christie, 2009b).

Na cera de abelha o teor de ésteres chega a 72%, sendo que o miricil palmitato é o principal componente com 33%. A cera espermaceti contém aproximadamente 98% de ésteres de ácidos monobásicos, sendo o seu principal constituinte o cetil palmitato (90%). A cera de lã é uma mistura complexa de ésteres de ácido graxos e álcoois de alto peso molecular, incluindo alifáticos e esteroidais, contendo cerca de 36% de ésteres de mono-hidroxiácidos, entre eles o lanopalmítico, ($C_{16}H_{32}O_3$), lanoaraquídico ($C_{20}H_{40}O_3$) e lanocerínico ($C_{30}H_{60}O_3$). Na cera de cana-de-açúcar os ésteres estão presentes em 70-72%, sendo os principais componentes o miricil palmitato (20%), ésteres de fitosteróis de dihidroxi-ácido palmítico (13%) e cerca de 37- 38% de éster estigmasteril do ácido palmítico (Warth, 1947; Bennett, 1963).

Hidrocarbonetos superiores aparecem como importantes constituintes de muitas ceras animais e vegetais e são os únicos constituintes das ceras obtidas a partir de petróleo, tais como a parafina e a microparafina (Warth, 1947; Bennett, 1963).

Quimicamente, as ceras de parafina consistem principalmente de hidrocarbonetos lineares e pequena quantidade de hidrocarbonetos aromáticos, enquanto que a microparafina contém uma alta concentração de hidrocarbonetos ramificados e uma maior concentração de aromáticos que a parafina. As ceras de parafinas tem peso molecular que varia entre 360 - 420, possuindo hidrocarbonetos entre 26 - 30 átomos de carbono. O peso molecular de microparafinas varia entre 580-700, contendo entre 41 - 50 átomos de carbono. Outra diferença marcante entre parafina e microparafina está na cristalização. Enquanto que a parafina tem cristais grandes e bem formados, a microparafina forma cristais pequenos e irregulares (Warth, 1947; Bennett, 1963;).

Na cera de candelila, o teor de hidrocarbonetos pode variar entre 50 - 51% da composição, sendo os principais o hentriacontano ($C_{31}H_{64}$) e o tritriacontano ($C_{33}H_{68}$), enquanto

que na cera de carnaúba esta concentração está em torno de 1 - 3% (Warth, 1947; Bennett, 1963).

3.2.3. Ceras em cosméticos

As ceras, assim como os óleos e gorduras, podem se utilizadas em formulações cosméticas com a finalidade de atuarem como emolientes, agentes sobreengordurantes, com substantividade, promovendo a lubricidade e brilho dos cabelos (Instituto Racine, 2005a).

As ceras tem um papel importante em formulações de condicionadores. Além de formar um filme protetor sobre o cabelo, elas proporcionam a estabilização e consistência da emulsão, produzindo uma sensação estética densa e rica (Johnson, 1997).

A cera de abelha é um ótimo regulador da consistência em cremes, sendo usado também em formulações de *stick* antitranspirantes, que em sua maioria, são produzidos a partir de substâncias lipofílicas (ceras e óleos) em proporções que permitam uma dureza ou rigidez específicas, mas também devem apresentar elasticidade suficiente para resistir a quebra ou rachaduras durante o uso (Hernandez e Mercier-Fresnel, 1999; Morante, 2009).

Ceras depilatórias devem apresentar uma boa aderência ao pelo e flexibilidade suficiente para permitir uma remoção sem ruptura, e para obtenção destas propriedades são utilizadas na sua composição as ceras de abelha, carnaúba, própolis e ceras parafínicas microcristalinas (Hernandez e Mercier-Fresnel, 1999).

As cera de carnaúba e candelila são utilizadas para aumentar a consistência de emulsões, batons, ceras depilatórias, desodorantes roll-on (Willians e Schmitt, 1996; Hernandez e Mercier-Fresnel, 1999).

Os batons são produtos de maquiagem destinados à dar aos lábios uma cor atraente, podendo modificar sua forma e volume. É composto de diferentes excipientes que devem dar-lhe as propriedades requeridas. As ceras são importantes pois proporcionam a dureza e aderência, sendo as mais utilizadas: cera de abelhas, carnaúba, candelila, lanolina e ozoquerita (Hernandez e Mercier-Fresnel, 1999).

Outra aplicação importante de ceras é em cremes capilares, que são emulsões o/w ou w/o que proporcionam manutenção da forma e alto brilho do cabelo. Um efetivo creme capilar é uma emulsão que desestabiliza rapidamente no ato da aplicação, porém necessita de alta estabilidade sob condições de estocagem. Este balanço delicado é atingido com alta performance através da utilização de antigos sistemas compostos por cera de abelha/ bórax (Willians e Schimitt, 1996).

A cera de lã extraída de carneiro é muito utilizada como emoliente, conferindo à pele mecanicamente ou quimicamente irritada, suavidade e maciez. Outro ponto bastante explorado é o fato da habilidade da lanolina absorver o seu próprio peso em água, tornando-se um veículo valioso para emulsões. Pode ser utilizada como estabilizador de emulsão, condicionador da pele, condicionador do cabelo e agente doador de viscosidade (Truter, 1956; Alvarez e Rodriguez, 2000).

3.3. Tensoativos

Os tensoativos, também conhecidos como surfactantes, são moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma outra hidrofílica. A definição da palavra surfactante é baseada na contração da frase em inglês que descreve “*surface-active agents*”, sendo caracterizado pela sua tendência em adsorver em superfícies e interfaces. (Holmberg et al, 2003; Santos et al, 2007).

Um tensoativo típico possui a estrutura R-X, onde R é uma cadeia de hidrocarboneto variando entre 8 – 18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo cabeça, polar (não-iônico ou iônico). Dependendo do grupo X, os tensoativos podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros (Holmberg et al, 2003; Santos et al, 2007).

Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo). A formação de um filme molecular ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes. Deste modo, os tensoativos apresentam duas propriedades fundamentais: capacidade de adsorção nas interfaces e a tendência de associação para formarem estruturas organizadas, sendo adequados para uma

ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, capacidade molhante, solubilização e dispersão de fases. A maior utilização dos surfactantes se concentra na indústria de produtos de limpeza (sabões e detergentes), na indústria de petróleo e na indústria de cosméticos e produtos de higiene (Nitschke e Pastore, 2002; Holmberg et al, 2003; Leonel, 2008).

A formação de agregados por moléculas anfifílicas, é favorecida pelo efeito hidrofóbico, enquanto várias outras interações se opõem a isso, o que gera o conceito de forças opostas, que agem principalmente na região interfacial do agregado. Uma força, o efeito hidrofóbico, tende a diminuir a área interfacial por molécula e a outra força tende a aumentar essa área, sendo esta última muito mais complicada já que resulta de vários tipos de interações, incluindo repulsão de hidratação, eletrostática entre cabeças polares e interação de impedimento estérico entre as porções polares ou hidrocarbônicas da molécula (Israelachvili, 1991; Villamagna, 1995; Holmberg et al, 2003; Leonel, 2008; Brandão, 2011).

Substâncias tensoativas, quando diluídas em água, tendem inicialmente a formar pequenos agregados, acima de uma certa temperatura e concentração (concentração micelar crítica, cmc) denominados micelas. Esses agregados podem assumir diferentes formas, tais como: esférica, cilíndrica ou discóide. A topologia dos agregados depende, além da natureza da molécula anfifílica, das condições da solução (concentração, temperatura, pH, salinidade, entre outras). Com o crescente aumento da concentração de tensoativo em solução, as micelas formadas tendem a se auto-organizarem, dando origem a diferentes fases líquido-cristalinas (Israelachvili, 1991; Holmberg et al, 2003; Sagar et al, 2007; Brandão, 2011).

A medida da afinidade de um tensoativo para óleo ou água pode ser identificada através do sistema HLB, ou Balanço Hidrofílico/ Lipofílico, valor este que pode ser calculado ou estimado experimentalmente. O sistema HLB foi desenvolvido para prever o comportamento de tensoativos não-iônicos. No sistema HLB, cada emulsificante recebe um valor numérico que expressa a relação entre o grupo hidrofílico e o grupo lipofílico. Um tensoativo de caráter lipofílico tem um número HLB baixo (abaixo de 9,0) sendo mais adequados para emulsões água em óleo, enquanto que um tensoativo hidrofílico tem um número HLB alto (acima de 11,0) sendo mais usados em emulsões óleo em água (Griffin, 1949; ICI Américas Inc., 1980; Anthony et al, 1996; Leonel, 2008).

Os tensoativos não-iônicos, à base de polióxido de etileno, são caracterizados por seus pontos de névoa, que consiste na temperatura na qual eles tornam-se hidrofóbicos e apresentam separação de fases em solução aquosa (Sjoblom, 1996).

3.4. O Cabelo

O cabelo é um tipo de pêlo que cresce no couro cabeludo, diferenciando-se dos pêlos comuns pelo desenvolvimento em comprimento. Podem ser lisos, crespos, ondulados e possuir diferentes tipos de cores (Valkonic, 2000).

Proporciona funções protetora, sensorial, atrativa sexual e isolante térmico. Protege o couro cabeludo contra queimadura e de outros efeitos da radiação e abrasão mecânica (Robbins, 2002).

Consiste em um apêndice contendo queratina que cresce através da epiderme a partir de grandes invaginações localizados na derme, chamadas de folículos. O seu diâmetro pode variar entre 15 a 120 μm . Basicamente, é composto por duas partes: uma parte livre visível, chamado de talo ou haste e outra parte, que está dentro da pele, a raiz ou bulbo (Robbins, 2002).

A estrutura e os constituintes protéicos do cabelo fornecem ao mesmo suas propriedades mecânicas, de brilho e cor.

3.4.1. Morfologia do Cabelo

Morfolologicamente, a fibra capilar consiste de três partes: a cutícula, o cortex e a medula, conforme ilustrado na Figura 4.

A cutícula, localizada na superfície da fibra, consiste em uma fina cobertura protetora de camadas de células achatadas tipo escamas, sobrepostas. A forma e orientação das cutículas são responsáveis pelo efeito de fricção diferenciada no cabelo. A cutícula normal possui uma aparência lisa e suave, com as escamas fechadas e intactas, limitando a fricção entre as fibras, permitindo a reflexão da luz, sendo deste modo responsável pelo brilho e textura do cabelo (Dawber, 1996; Johnson, 1997; Robbins, 2002; Bhushan, 2008).

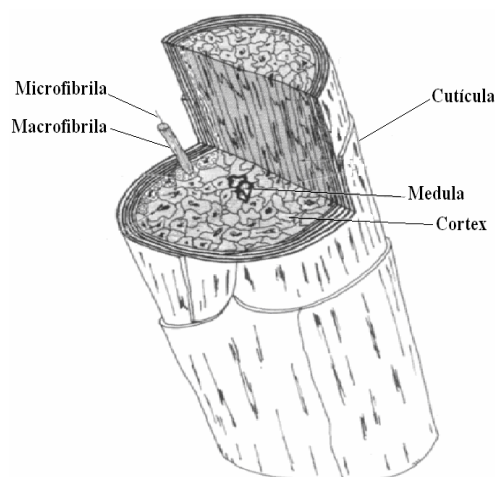


Figura 4: Estrutura da fibra capilar, ilustrando a cutícula, córtex e medula (Fonte: Dawber, 1996).

As cutículas danificadas pela ação de escovar, pentear e xampu apresentam suas extremidades abertas e deformadas ou até mesmo removidas (Dawber, 1996; Johnson, 1997; Robins, 2002; Bhushan, 2008).

O córtex contém a maior parte da massa da fibra, e é a parte que mais contribui para a cor e força mecânica. As estruturas principais dentro das células corticais são as macrofibrilas, as quais são compostas de várias subunidades conhecidas como microfibrilas, arranjadas e embebidas numa estrutura matriz, rica em proteínas com alto-enxofre. As microfibrilas contém o material protéico organizado em α -hélice responsável pelo padrão de difração de raios-X característico de todas α -queratinas. A α -hélice presente dentro das microfibrilas estão organizadas na forma de cordas, que são formadas por duas α -hélices que se enrolam entre si. O relacionamento das microfibrilas embebidas na matriz e a presença de estrutura organizada tipo α -hélice dentro das microfibrilas tem um papel fundamental nas propriedades mecânicas e de sorção de água de toda a fibra (Dawber, 1996; Johnson, 1997; Robbins, 2002; Bhushan, 2008).

A medula, quando presente em cabelos de maior diâmetro, está localizada na parte central da fibra, e corresponde a uma pequena porcentagem da massa total da fibra. É composta por células com forma variada, podendo ser contínua ou fragmentada, apresentando-se numa rede de queratina esponjosa com material amorfo ligado a espaços de ar de tamanho variado (Dawber, 1996; Robbins, 2002; Bhushan, 2008).

3.4.1. Composição química

Dependendo da umidade do cabelo, que pode atingir até 32%, o cabelo humano consiste de aproximadamente 65-95% de proteínas queratinosas. Os outros constituintes do cabelo são lipídios (estruturais e livres), água, pigmentos (melanina) e traços de alguns elementos (Robbins, 2002; Harrison e Sinclair, 2004; Bhushan, 2008).

A queratina, o principal constituinte do cabelo, não é uma substância química específica, mas consiste em um grupo de proteínas complexas, sendo definida como proteína fibrosa, altamente estável, que contém ligações de dissulfeto e que é resistente a digestão enzimática e de difícil solubilidade, sendo esta somente obtida quebrando-se as pontes de dissulfeto por reações de oxidação ou redução (Dawber, 1996; Valkovic, 2000; Bhushan, 2008).

Entre os principais aminoácidos encontrados nas queratinas do cabelo estão: cisteína (15,9%), serina (12,2%), ácido glutâmico (12,2%), prolina (8,4%), treonina (7,6%), arginina (6,5%), entre outros (Valkovic, 2000; Bhushan, 2008).

A maioria das proteínas queratinosas está contida dentro das células corticais, mas quantidades significantes estão presentes dentro da cutícula, enquanto que as proteínas medulares são de pouca significância. No córtex as proteínas de alto-enxofre (conteúdo de cisteína superior a 30% em mol) estão predominantemente na matriz e as de baixo-enxofre estão nas proteínas fibrosas ou α -hélice (Dawber, 1996; Schlossman, 2000; Bhushan, 2008). A queratina não possui coloração, sendo a presença de melanina no córtex que fornece cor ao cabelo, e é derivada a partir de melanócitos presentes no bulbo capilar (Bolduc e Shapiro, 2001).

As cadeias de queratinas têm um grande número de resíduos de cisteína contendo enxofre, e estes resíduos em filamentos de queratina adjacentes formam ligações dissulfeto covalentes formando uma ligação cruzada forte entre cadeias adjacentes de queratina. As ligações de dissulfeto contribuem muito para a forma, estabilidade e textura do cabelo. Estas ligações dissulfetos permanecem intactas quando o cabelo é umedecido, permitindo a fibra retomar a sua forma original. Outras ligações fracas unem as cadeias polipeptídicas, tais como: interações de Van der Waals, ligações de hidrogênio e interações coulômbicas conhecidas como ligações iônicas. Estas ligações fracas podem ser facilmente quebradas pela ação da água (Figura 5) (Bolduc e Shapiro, 2001; Harrison e Sinclair, 2004; Bhushan, 2008).

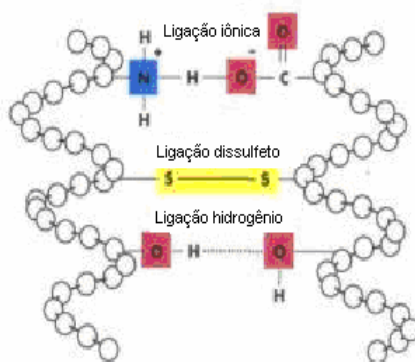


Figura 5: Ligações químicas presentes na queratina (Fonte: Bhushan, 2008).

A superfície do cabelo é carregada negativamente (Figura 6), e pode ser danificada por uma variedade de fatores químicos (permanente, coloração, clareamento, relaxação) e mecânicos (ação do pente, secador, chapinha térmica). Com a contínua danificação química, a carga do cabelo aumenta, com grande tendência a maior adsorção de água, tornado difícil o controle da eletricidade estática (“efeito fly-away”) (Longo et al, 2006; Torre et al, 2006). Deste modo, uma formulação contendo componentes catiônicos, tais como uma formulação condicionante que apresenta como composto ativo um polímero quaternário catiônico, apresenta grande afinidade para a superfície carregada negativamente da fibra capilar. Estas substâncias podem ser adsorvidas fortemente por interação eletrostática com os grupos sulfônicos da superfície do cabelo, e causar mudanças nas propriedades de superfície do cabelo. Deste modo, pode proporcionar sensação de amaciamento, proteção à fibra, diminuição da carga estática, melhora na penteabilidade entre outras propriedades (Pfau et al, 1997; Lodge e Bhushan, 2006).

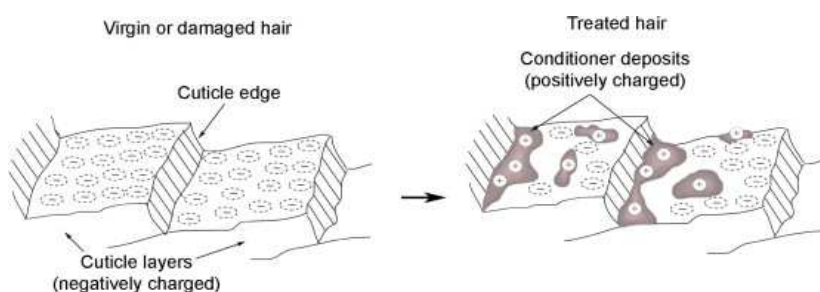


Figura 6: Depósito de condicionador catiônico sobre a superfície da cutícula carregada negativamente (Fonte: Bhushan, 2008).

3.4.3. Brilho capilar

O brilho está entre as propriedades mais desejadas pelo consumidor em termos de eficácia esperada de um produto cosmético para o tratamento do cabelo, pois relaciona-se com saúde e beleza (Johnson, 1997).

Quando o cabelo é iluminado, a luz incidente pode ser refletida na superfície ou espalhada. Ela também pode entrar na fibra e ser absorvida (por pigmento), ou então reemergir, usualmente após colidir com a parede oposta da fibra, onde a mesma é parcialmente refletida e refratada novamente (Robbins, 2002).

A Figura 7, ilustra alguns parâmetros importantes para o brilho do cabelo. Quando a luz atinge a superfície, ela pode ser refletida especularmente (S), quando o ângulo de refletância é igual ao ângulo de incidência, ou ele pode ser refletido difusivamente (D), em ângulos diferentes do ângulo incidente.

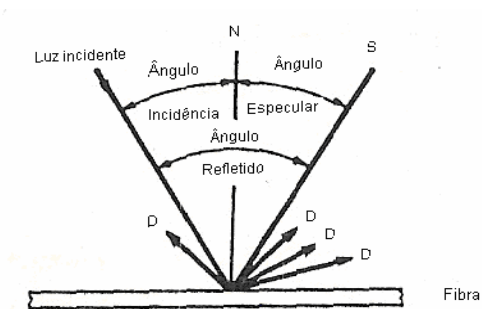


Figura 7: Reflexão difusa (D) e especular (S) (Fonte: Robbins, 2002).

Uma combinação de reflexão difusa e especular ocorrem na superfície. A razão entre estas reflexões da luz, geralmente é adotada como medida do brilho das fibras, podendo seguir a função, descrito pela equação 1 (Robbins, 2002).

$$\text{Brilho} = (S - D) / S \quad (1)$$

onde:

S = Refletância especular

D = Refletância difusa

Para um brilho saudável, a suavidade da cutícula é um dos fatores mais importantes para reduzir a reflexão difusa na superfície do cabelo. Em geral, tratamentos químicos, calor seco excessivo, ou resíduos deixados por tratamento com shampoo, induzem a formação de poros nas fibras ou rugosidade na superfície. Se os seus tamanhos são maiores que o comprimento de onda da luz, eles comportam-se como fontes de reflexão difusa com resultados de opacificação (Watanabe et al, 2007).

A abrasão das fibras capilares também diminui o brilho, sendo esta opacificação maior quanto maior for a abrasão. Ações abrasivas como penteamento vigoroso ou escovamento podem tirar o brilho do cabelo, quebrando as extremidades das escamas das cutículas e criando mais irregularidades na superfície da fibra. Estas ações tornam o cabelo mais opaco, aumentando o espalhamento difuso (Robbins, 2002).

3.5. Cosméticos

3.5.1. Definição e classificação

Produto cosmético é definido como todas as substâncias ou preparações, destinados a entrarem em contato com as diversas partes superficiais do corpo humano ou com os dentes e as mucosas, com o objetivo de limpar, proteger, manter o bom estado, modificar o aspecto de perfumar ou de corrigir o odor (Hernandez e Mercier-Fresnel, 1999; ANVISA, 2005). São classificados em grau de risco 1 e 2. Os produtos de grau 1 são aqueles que se caracterizam por possuírem propriedades básicas, cuja comprovação não é necessária, enquanto que os produtos tipo grau 2 são aqueles que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso (ANVISA, 2005; Fronza et al, 2007,).

Os cosméticos podem ser direcionados para aplicação na pele (rosto e corpo), cabelo, cavidade oral e mucosa, podendo se apresentar em várias formas, tais como: soluções transparentes alcoólicas, géis, óleos, cremes, leites, loções, espumas (mousse), suspensão, pós, sólidos (stick), pastas e aerossóis (Instituto Racine, 2005b).

3.5.2. Cosméticos para cabelo

O meio ambiente desfavorável influencia negativamente na aparência dos cabelos, que estão sujeitos a ação do sol, da chuva, de pós, de partículas metálicas, da fuligem e de gases que saturam a atmosfera.

Quando o cabelo sofre um tratamento químico como descoloração ou permanente, ele se ressentido do tratamento a que foi submetido, sendo necessário a aplicação de produtos que visem corrigir esses danos provocados (Instituto Racine, 2005a).

O cabelo e o couro cabeludo acumulam uma ampla variedade de impurezas, incluindo oleosidade produzida pelas glândulas sebáceas, células mortas descamadas, resíduos de cosméticos e sujidades do meio ambiente. Os cabelos sujos perdem o brilho, tornam-se rebeldes e com odor desagradável (Instituto Racine, 2005a).

Com o objetivo de reverter estes processos, o homem tem valorizado a limpeza, tratamento e modificação da cor e forma dos cabelos, sendo usados diversos tipos de produtos com esta finalidade, tais como: xampus e sabonetes líquidos, condicionadores, revitalizantes, modeladores e fixadores, permanentes, alisantes, colorantes e descolorantes. (Williams e Schimitt, 1996; Johnson, 1997; Instituto Racine, 2005a).

Existe ainda uma infinidade de outros produtos para tratamentos dos cabelos, tais como fluidos reparadores de pontas, mousse e sprays para fortalecimento.

3.6. Encapsulação

O conceito de encapsulação surgiu da idealização do modelo celular. Neste, a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo outras funções, como controlar a entrada e a saída de material na célula. De modo semelhante, a encapsulação consiste em uma camada de um agente encapsulante, geralmente um material polimérico, que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa (gotículas líquidas, partículas sólidas ou material gasoso) e evitando a sua exposição inadequada. Essa membrana se desfaz sob estímulo específico, liberando a substância de forma controlada e sob condições

específicas (Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008). Trata-se de uma tecnologia que tem sido empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica, alimentícia e agroquímica.

De acordo com o seu tamanho, as partículas são classificadas como nanopartículas ou micropartículas, variando de 0,01 a 0,2 μm para nanopartículas e de 1 a 100 μm , para micropartículas. Acima de 100 μm elas são denominadas de macropartículas (Azeredo, 2005; Suave et al, 2006; Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008).

O material encapsulado é denominado recheio ou núcleo, e o material que forma a cápsula de agente encapsulante, cobertura ou parede. Em termos de estrutura, as cápsulas podem ser divididas em dois grupos: aquelas nas quais o núcleo é nitidamente concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede, e aquelas nas quais o núcleo é uniformemente disperso em uma matriz. O primeiro grupo pode ser classificado como sistema do tipo reservatório, e caracteriza as microcápsulas; e o segundo, classificado como sistema matricial, e resulta nas chamadas microsferas. No entanto, o termo ‘encapsulação’ tem sido usado em seu sentido mais amplo, englobando tanto a formação de microcápsulas quanto de microsferas, ou mais genericamente de micropartículas. Além do tamanho das micropartículas poder variar de alguns poucos nanômetros até vários micrômetros; a forma também é bastante variável em função do método e do agente encapsulante utilizados para prepará-las (Azeredo, 2005; Suave et al, 2006; Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008).

3.7. Microencapsulação

Os primeiros registros de tentativas de aplicação da técnica de microencapsulação datam de 1930, mas o primeiro produto com material microencapsulado só surgiu em 1954. A empresa norte-americana National Cash Register (NCR) foi a pioneira, ao comercializar um papel de cópia sem carbono que recebeu uma fina camada de microcápsulas de tinta com diâmetro de 1 até 10 μm . A pressão da ponta do lápis na superfície do papel rompia as microcápsulas, liberando o pigmento, que, por contato direto com o revestimento ácido aplicado na superfície frontal da segunda via, mudava de cor em função do pH, propiciando a obtenção da cópia. As primeiras pesquisas na área farmacêutica também aconteceram na década de 50. Nesse campo houve uma contribuição importante, pois a microencapsulação permitiu o desenvolvimento de

fórmulas de liberação controlada. Em tais produtos, o princípio ativo protegido é liberado gradativamente por meio de estímulos adequados, tais como mudança de pH, rompimento físico, intumescimento, dissolução etc (Cosméticos & Perfumes, 2005; Suave et al, 2006).

A microencapsulação tem sido utilizada com diversas finalidades, dentre as quais: modificar e melhorar a aparência e as propriedades de uma substância, proteção química, facilitar a manipulação do material encapsulado, mascarar odor e sabor desagradáveis e principalmente promover a liberação controlada (Albertini et al, 2008; Favaro-Trindade et al, 2008; Jannin et al, 2008; Wiechers, 2008).

A microencapsulação pode ser realizada por processos químicos, físicos ou físico-químicos. Os métodos químicos usados são: polimerização interfacial e inclusão molecular. Entre os métodos físicos, estão: extrusão estacionária, bocal submerso, extrusão centrífuga, spray drying, disco rotativo, pan coating, suspensão por ar, *spray cooling*, leiteo fluidizado, co-cristalização e liofilização. Já os métodos físico-químicos, são: coacervação simples e complexa e emulsificação seguida de evaporação (Azeredo, 2005; Suave et al, 2006; Dobre et al, 2008; Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008).

A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação.

Muitos materiais podem ser utilizados como cobertura para as microcápsulas, dentre eles: goma arábica, agar, alginato e carragena; os carboidratos amido, amidos modificados, dextrina e sacarose; as celulose carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose; os lipídios parafina, mono e diacilgliceróis, óleos e gorduras; os materiais inorgânicos sulfato de cálcio e silicatos; as proteínas do glúten, caseína, gelatina e albumina (Azeredo, 2005; Suave et al, 2006; Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008).

Os mecanismos de liberação dos materiais ativos microencapsulados variam de acordo com a natureza do agente encapsulante, sendo que normalmente ocorrem devido a mecanismos como: variação da temperatura e pH, solubilidade do meio, biodegradação, difusão, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva e gradiente (Azeredo, 2005; Suave et al, 2006; Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008).

A escolha do método de encapsulação para uma aplicação específica depende de uma série de fatores, como: tamanho de partículas requerido, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo (Azeredo, 2005; Suave et al, 2006; Favaro-Trindade et al, 2008; Wiechers, 2008).

3.8. Nanoencapsulação em Cosméticos

As nanopartículas são colóides, com tamanho variando entre 10 nm a 1 µm. Podem ser divididas em duas famílias principais: nanoesferas, que possuem uma estrutura homogênea, e nanocápsulas, que exibem uma estrutura típica núcleo-casca (Anton et al, 2008).

Um nanocosmético pode ser definido como sendo uma formulação cosmética que veicula ativos ou outros ingredientes nanoestruturados e que apresenta propriedades superiores quanto a sua performance em comparação com os cosméticos convencionais (Fronza et al, 2007).

A área cosmética tem evidenciado uma clara tendência, desde 1990, em criar produtos que sejam mais eficazes. A eficácia de qualquer produto contendo um ingrediente funcional é determinado por dois fatores: a atividade intrínseca da molécula ativa, assim como a liberação desta molécula no seu sítio de ação. A atividade intrínseca de um ingrediente ativo, ou sua capacidade de fazer alguma ação, dita seu perfil de funcionalidade, mas não garante que todo produto contendo este ingrediente funcional seja funcional. Para esta funcionalidade ocorrer, o ingrediente ativo deve ser liberado no sítio de ação a uma concentração relevante e por um período de tempo suficientemente longo de tempo. Este critério aplica-se para todos os materiais ativos, desde condicionadores de cabelo que devem ser depositados sobre o cabelo para terem funcionalidade, à clareadores de pele que devem penetrar na pele, inibindo a enzima tirosinase na melanogênese (Wiechers, 2008).

O setor de cosméticos tem encontrado inúmeras aplicações, sendo que atualmente, um número considerável de produtos cosméticos no mercado mundial é de base nanotecnológica, e em sua grande maioria para aplicação cutânea, existindo uma tendência a um maior número de produtos de aplicação no rosto, e especialmente na região dos olhos, com ação anti-rugas,

indicando uma grande aplicação destes produtos em formulações anti-envelhecimento cutâneo (Fronza et al, 2007).

As principais vantagens do uso da encapsulação na produção de cosméticos e formulações dermatológicas são relativos à proteção de ingredientes quanto a degradação química ou enzimática, ao controle de sua liberação e ao prolongamento do tempo de residência dos ativos cosméticos ou fármacos na camada córnea (Fronza et al, 2007; Wiechers, 2008).

3.9. Partículas Lipídicas Sólidas

As partículas lipídicas sólidas, representam o conceito mais moderno de carreadores lipídicos e foram derivadas a partir de emulsões óleo em água (o/w), onde simplesmente substituiu-se o lipídio líquido (óleo) por um lipídio sólido ou mistura de lipídios sólidos à temperatura ambiente (Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Müller et al, 2007; Pardeike et al, 2009). Estes carreadores lipídicos têm sido propostos como sistemas coloidais de liberação alternativos aos outros sistemas carreadores micro/ nanoestruturados, tais como: micro/ nanoemulsões, micro/ nanopartículas poliméricas e lipossomas, apresentando flexibilidade com respeito ao ajuste de tamanho da partícula desejada (Souto, 2005; Rawat et al, 2006; Guterres et al, 2007; Chambi et al, 2008; Wiechers, 2008;).

Entre as vantagens das partículas lipídicas, em relação aos outros micro/nanocarreadores, estão: matriz lipídica composta por lipídios biocompatíveis; proteção de substâncias sensíveis a degradação química; controle de liberação dos ativos; facilidade de escalonamento de produção; além do baixo custo, e uso de processos que não necessitam da utilização de solventes orgânicos (Mehnert e Mader, 2001; Müller et al, 2002a; Müller e Souto, 2005).

As primeiras partículas preparadas com materiais lipídicos sólidos foram descritas por Speiser, no início dos anos 80, e subsequentemente as técnicas de precipitação a partir de microemulsão (Gasco, 1993) e homogeneização por alta pressão (Müller et al, 2000) foram utilizadas para produzir nanopartículas lipídicas sólidas. Speiser, patenteou em 1990 (Speiser, 1990), a produção de nanoesferas (nanopellets) lipídicas para administração peroral, pela técnica de atomização e cristalização por congelamento (conhecida como *spray chilling*, *spray cooling*

ou *spray congealing*). De modo geral, esta técnica produzia misturas de micro/ nanopartículas lipídicas (Eldem et al, 1991; Müller et al, 2000; Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005).

A primeira geração de nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) foi desenvolvida no início da década de 90 por Müller et al (2000), sendo que as principais desvantagens observadas foram: capacidade limitada de incorporação de ativos, possibilidade de expulsão do ativo durante a estocagem devido à modificações polimórficas dos lipídios e riscos de gelação na dispersão, que consiste na transformação de uma dispersão de baixa viscosidade para um gel viscoso (Müller e Dingler, 1998; Müller et al, 2002a; Müller et al, 2002b; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005).

Para superar os problemas encontrados com a primeira geração de SLN's foi desenvolvido, a partir da virada do segundo milênio, a segunda geração que foi denominada de carreadores lipídicos nanoestruturados, do inglês, *nanostructured lipid carriers* (NLC), onde as partículas foram produzidas a partir de uma mistura de lipídios sólidos com lipídios líquidos, sendo esta mistura sólida à, no mínimo, 40 °C. A principal diferença entre as SLN e as NLC, está na nanoestruturação da matriz lipídica de modo a permitir um aumento da capacidade carga do ativo e prevenção da expulsão do mesmo, dando mais flexibilidade para a liberação da droga. Esta proposta é atingida pela mistura de lipídios sólidos com lipídios líquidos em NLC. O resultado é uma matriz lipídica menos ordenada com várias imperfeições, que podem acomodar uma maior quantidade de ativo (Müller et al, 2002a; Müller et al, 2002b; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Müller et al, 2007; Pardeike, 2009).

A principal limitação das partículas lipídicas sólidas é a baixa capacidade de carga de ativos hidrofílicos devido a efeitos de partição durante o processo de produção. Para superar esta limitação, as nanopartículas de drogas conjugadas (LDC) com capacidade de carga de ativo com até 33%, têm sido desenvolvida (Olbrich et al, 2002; Patidar et al, 2010). Um complexo conjugado lipídio-ativo é primeiramente preparado através da formação de uma sal (por exemplo com ácido graxo) ou por ligação covalente (por exemplo, ésteres ou éteres). O conjugado droga-lipídio é então processado com solução aquosa do surfactante (tal como Tween) para uma formulação de nanopartículas usando homogeneização por alta pressão (Patidar et al, 2010).

Os ingredientes utilizados na preparação das SLN, NLC e LDC incluem lipídios, tensoativos e água. Os lipídios usados incluem triglicerídeos, ácidos graxos, esteróides e ceras.

Todas as classes de tensoativos têm sido utilizado para a estabilização da dispersão (Mehnert e Mader, 2001; Müller et al, 2002a; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005).

3.9.1. Descrição estrutural das nanopartículas lipídicas sólidas

A incorporação de ativos em SLN, é baseada em três modelos: matriz homogênea, casca enriquecida e núcleo enriquecido (Figura 8). As diferenças morfológicas entre estes modelos dependem principalmente da composição da formulação, natureza química do ativo, lipídio, e surfactante, assim como o método de produção. O modelo da matriz homogênea é definido como uma matriz lipídica homogênea contendo o ativo disperso molecularmente ou estando presente em “clusters” amorfos. O modelo da casca enriquecida é descrito por uma casca externa enriquecida com o ativo que cobre um núcleo lipídico, sendo este modelo adotado para drogas cuja liberação ocorre de modo muito rápido. O modelo do núcleo enriquecido é formado quando o ativo precipita primeiro e a casca de lipídio é formada ao redor deste núcleo (Müller et al, 2005; Souto e Müller, 2005; Souto, 2005)

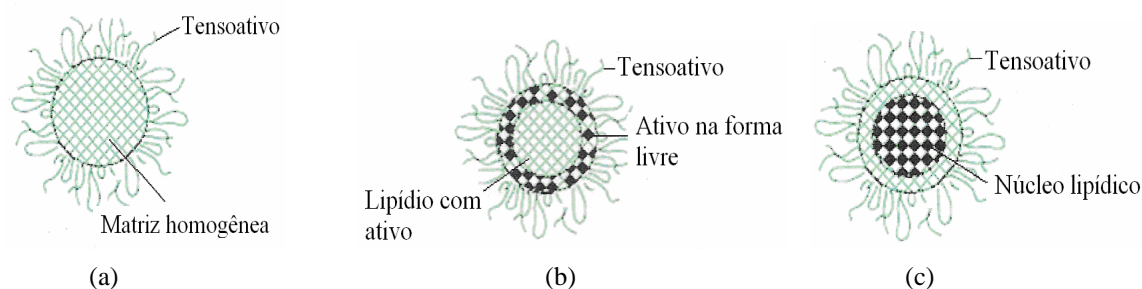


Figura 8: Modelos para incorporação de ativos em SLN: (a) Matriz homogênea, (b) Casca enriquecida e (c) Núcleo enriquecido. Fonte: adaptado de Pinto (2010).

A incorporação de ativos em NLC, pode ser realizada nos modelos, do Tipo I ou cristal imperfeito, Tipo II ou amorfo e Tipo III ou múltiplo (Figura 9). O modelo Tipo I ou cristal imperfeito apresenta muitas imperfeições que são capazes de acomodar o ativo, sendo obtido quando mistura-se lipídios sólidos (ceras ou gorduras) com pequenas quantidades de lipídios líquidos (óleos). O modelo Tipo II ou amorfo, é obtido quando lipídios especiais não cristalizam mesmo após resfriamento. O modelo Tipo III ou múltiplo, é derivado de emulsões água/óleo/água e consiste de uma dispersão de óleo em gordura em água, onde pequenos

nanocompartimentos são criados dentro de uma matriz lipídica sólida, sendo obtido quando mistura-se lipídios sólidos com lipídios líquidos (óleos) numa razão tal que a solubilidade do óleo no lipídio sólido é excedida. (Müller et al, 2002b; Souto e Müller, 2005; Müller et al, 2005; Souto, 2005).

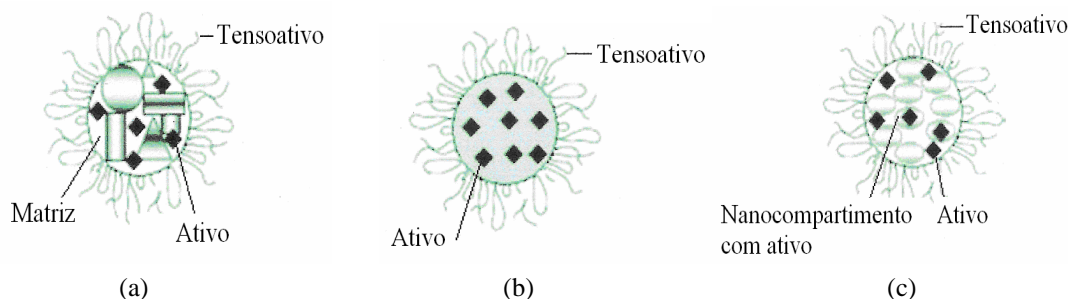


Figura 9: Modelos para incorporação de ativos em NLC: (a) Tipo I ou cristal imperfeito, (b) Tipo II ou amorfo e (c) Tipo III ou múltiplo. Fonte: adaptado de Pinto (2010).

3.9.2. Métodos de produção de micro e nanopartículas lipídicas sólidas

Entre as principais técnicas para preparação de partículas lipídicas sólidas podemos citar os métodos que produzem micropartículas ou misturas de micro/ nanopartículas, tais como: *spray drying*, *spray cooling*, e métodos baseados em fluídos supercríticos (Albertini et al, 2008; Favaro-Trindade et al, 2008; Jannin et al, 2008; Patidar et al, 2010). Enquanto que os principais métodos utilizados para preparação de nanopartículas, são: homogeneização por alta pressão à quente e à frio, evaporação/ emulsificação do solvente, emulsificação-difusão do solvente, injeção do solvente (ou deslocamento do solvente), emulsão múltipla, ultrassonicação, contrator de membrana, microemulsão e, mais recentemente métodos baseados em formação de partículas a partir de nanoemulsão por baixa energia (Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Anton et al, 2008; Pardeike et al, 2009).

3.9.2.1. Métodos de produção de micropartículas lipídicas sólidas

3.9.2.1.1. Atomização e cristalização por congelamento (*spray cooling*)

A atomização e cristalização por congelamento é um processo onde o ativo pode ser dissolvido ou disperso em polioxiglicerídeos, triglicerídeos, gomas, álcoois e ácidos graxos e ceras fundidas. A mistura fundida dos lipídios ou na forma emulsionada é atomizada em uma câmara fria onde a temperatura está abaixo do ponto de fusão dos componentes da formulação. Sobre contato com o ar frio, as gotas atomizadas congelam e recristalizam em partículas esféricas sólidas e são coletadas como um pó fino. O ar frio remove o calor latente de fusão. A temperatura do ar frio usado depende do ponto de cristalização dos componentes. Devido a ausência de evaporação de solventes na maioria dos processos de congelamento, as partículas geralmente obtidas são não-porosas. Este processo é muito similar ao utilizado no Spray drying, com exceção que não é utilizado solvente (Hincal e Kas, 1994; Maschke et al, 2007; Chambi et al, 2008; Jannin et al, 2008; Ilic et al, 2009; Passerini et al, 2010)

A velocidade de alimentação, velocidade de resfriamento, bem como as temperaturas de entrada e saída são ajustadas para garantir o congelamento das partículas atomizadas (Hincal e Kas, 1994).

Spray dryer convencional com entrada de ar frio, pode ser utilizado para propostas de congelamento. O equipamento de *spray cooling* tem duas partes principais: a câmara de resfriamento e o atomizador. O atomizador está inserido dentro da câmara de resfriamento que atomiza a mistura fundida em pequenas partículas. Há vários tipos de atomizador: rotatório ou centrífugo, pressão ou simples fluído, duplo-fluido ou pneumático e o ultrassônico (Hincal e Kas, 1994; Rodriguez et al, 1999; Maschke et al, 2007; Albertini et al, 2008; Jannin et al, 2008; Passerini et al, 2010)

As vantagens de usar um processo de *spray cooling* são numerosas: geralmente nenhum solvente orgânico é requerido na formulação; a produtividade é alta e os tempos de processo são curtos. As principais limitações são: o ativo deve ser estável na temperatura requerida para a fusão do lipídio carreador, o processo requer cuidados para evitar a solidificação na linha de alimentação e aglomeração indesejáveis. Muitos dos materiais carreadores sofrem

mudanças polimórficas durante a estocagem, o que pode afetar a estabilidade e perfis de dissolução do ativo (Wiechers, 2008; Ilic et al, 2009).

A literatura disponível sobre o efeito de parâmetros do processo de *spray cooling* nas propriedades das partículas formadas ainda é limitada. Entre as variáveis estudadas estão: a velocidade de alimentação do lipídio fundido, a viscosidade do líquido, o tipo de atomizador, velocidade do atomizador (centrífugo), pressão de atomização, tipo e quantidade de sólidos dispersos nos lipídios fundidos (Maschke et al, 2007; Ilic et al, 2009).

Atomizadores tradicionais (rotatório, pressão ou duplo fluído), somente usam uma pequena quantidade da energia operacional (centrífuga, pressão ou energia cinética) para atomização, enquanto a maior parte da energia é transformada em energia cinética das partículas. Como consequência, alguns problemas podem surgir, tais como separação parcial dos componentes nas misturas, ou poros e presença de defeitos na superfície das micropartículas. Além disso, a dimensão do equipamento e o custo aumentam quando a velocidade das partículas atomizadas aumenta. Estas desvantagens podem ser reduzidas usando um atomizador ultrassom, que atomiza através da geração de alta frequência (Rodriguez et al, 1999). Recentemente um novo tipo de atomizador pneumático foi desenvolvido com sucesso por Albertini et al (2008), onde foi atomizado sistemas altamente viscosos, obtendo-se altos rendimentos e distribuição de tamanho de partículas relativamente estreito.

O uso de matrizes lipídicas sólidas para liberação prolongada de ativos é conhecida há muitos anos na área farmacêutica, sendo que a produção de micropartículas por *spray cooling* foi descrita por Speiser no início dos anos 80 (Eldem et al, 1991) seguido por nanoesferas lipídicas (Nanopelletes) para administração oral (Müller et al, 2000; Mehnert e Mader, 2001; Müller e Souto, 2005; Souto, 2005).

Eldem et al (1991) prepararam microcápsulas lipídicas a partir de glicerídeos e fosfolipídios por processo de *spray drying* e *spray cooling*. Neste estudo foi investigado a influência do tipo de solvente, tipo de lipídio bem como o tamanho da cadeia e tipo de ativo na morfologia da superfície das microcápsulas.

Rodriguez et al (1999), desenvolveram um novo tipo de atomizador ultrassônico, com a finalidade de obtenção de sistemas microparticulados de liberação, através de *spray cooling*. Foram utilizados como ativo a teofilina e o fenbufeno, e como excipientes o ácido esteárico, cera

de carnaúba, cutina HR e compritol. Obteve-se neste estudo, partículas com diâmetro médio de 375 μm , não agregadas e esféricas. Testes in vitro de liberação dos ativos, mostraram que a sua liberação depende da sua solubilidade e da lipofilicidade do excipiente. Os resultados mostraram que este tipo de atomizador pode ser proposto como possível alternativa para os atomizadores tradicionais usado para Spray congealing.

Maschke et al (2007), prepararam micropartículas carregadas com proteínas usando processo de *spray cooling*, estudando a pressão de atomização e temperatura de spray sobre o tamanho de partículas, por planejamento experimental. A técnica empregada produziu partículas com rendimentos de 79 - 95% e com diâmetros médios de partículas de 182 a 315 μm . Micropartículas lipídicas com insulina poderiam ser preparadas por este processo com minimização das perdas.

Chambi et al (2008), produziram micropartículas lipídicas sólidas por *spray cooling*, contendo compostos hidrossolúveis como glicose e caseína, usando uma matriz de ácido oléico/esteárico e esteárico/ láurico, mostrando alta eficiência de incorporação (75 - 100%) e com diâmetro médio de 12 a 24 μm .

Albertini et al (2009), desenvolveram um método de encapsulação de avobenzona pela técnica de *spray cooling* com atomizador pneumático, usando Fosfatidilcolina hidrogenada e cera de carnaúba com alta eficiência de encapsulação (>86%), o que representou uma estratégia eficaz para reduzir a fotodegradação deste ativo utilizado como filtro UVA, sendo uma promissora tecnologia para futuros desenvolvimentos para formulações de protetores solares. O diâmetro médio das partículas obtidas foi de 20 - 60 μm , para 51% da população.

Atualmente, a produção de micropartículas lipídicas sólidas pela técnica de *spray cooling* tem recebido especial atenção na possibilidade de produzir partículas lipídicas sólidas para liberação sustentada, em virtude da não utilização de solventes orgânicos e selecionando-se o caráter lipofílico/ hidrofílico do carreador, as partículas podem controlar a liberação do ativo (Albertini et al, 2008; Jannin et al, 2008).

3.9.2.1.2. Secagem por atomização (*Spray Drying*)

É definido com um processo pelo qual uma solução líquida é atomizada em uma câmara de ar quente para evaporar a fração volátil, ou seja, o solvente orgânico ou água contida em uma emulsão. O processo produz micropartículas sólidas. O mesmo equipamento descrito para *spray cooling* pode ser utilizado para *spray drying*, a principal diferença está relacionado à temperatura de ar circulante na câmara de atomização. O solvente convencional usado é diclorometano, contudo, outros solventes podem ser usados. As condições de secagem são os parâmetros chave para o processo, e a escolha do atomizador tem um efeito significativo sobre a distribuição de tamanho das partículas secas (Jannin et al, 2008). Os atomizadores comuns são tipo pressão, centrífugos (rotatórios) e pneumáticos (duplo-fluído), contudo uma nova técnica de secagem por spray consistindo da alimentação do fluído através de um atomizador ultrassônico tem sido desenvolvido, conduzindo a partículas de tamanho reduzido (Paiva et al, 2007).

A técnica de *Spray drying*, também tem sido utilizada na preparação de emulsões secas. Ao invés de dissolver a fórmula em um solvente orgânico, a emulsão óleo-em-água pode ser formulada e seca para remover a fase aquosa. A tecnologia de emulsão seca resolve problemas de estabilidade associada com emulsões clássicas (separação de fase, contaminação por microorganismo, etc) durante estocagem. Emulsões secas podem se redispersas em água antes do uso (Jannin et al, 2008).

Uma solução aquosa pode ser atomizada em pequenas gotas em ar quente. A secagem de gotas conduz a formação de partículas pequenas (menor que 50 μm). O ingrediente ativo pode ser disperso em uma matriz líquida, uma solução ou uma emulsão. O material matriz é frequentemente um polissacarídeo (tal como goma arábica), geralmente selecionado por sua alta solubilidade e baixa viscosidade. O tempo de residência é muito curto (poucos segundos), mas a temperatura pode ser muito alta (150 $^{\circ}\text{C}$) (Wiechers, 2008).

3.9.2.1.3. Emprego de fluído supercrítico

Os métodos baseados em fluído supercrítico (SFC) para produzir dispersões sólidas, envolve em dissolver o ativo e o excipiente lipídico em um solvente orgânico tal como metanol e

então no fluido supercrítico, seguido pela diminuição da temperatura e pressão para reduzir as suas solubilidade no fluido. As considerações importantes com esta técnica são: solubilidade dos componentes da formulação no fluido supercrítico, integridade estabilidade da substância ativa nas condições de processo, impactos ambientais e energéticos relacionados à evaporação do solvente. Comparados à outros métodos, o fluido supercrítico é o que apresenta alto potencial para exposição lipídica (99%), uma pobre capacidade relativa de carga, sendo adequado para drogas com alta potência em baixa dosagem (Jannin et al, 2008).

Dióxido de carbono (CO₂) tem sido usado, devido a sua baixa toxicidade, sua temperatura crítica e moderada pressão crítica, e seu baixo custo. As principais vantagens incluem: suave condição de processo, possibilidade de propriedades estéreis, capacidade de produzir micro e nanopartículas na forma de pó seco e escalonamento factível. A tecnologia de SCF compreende vários métodos para produção de micro/ nanopartícula, os quais são selecionados de acordo com a solubilidade do ativo (Patidar, 2010).

3.9.2.2. Métodos de produção de nanopartículas lipídicas sólidas

3.9.2.2.1. Homogeneização por alta pressão

A homogeneização por alta pressão (HPH) emergiu como uma técnica confiável e potente para a preparação de SLN/ NLC. Homogenizadores de diferentes tamanhos são comercialmente disponíveis de diversos fabricantes a preços razoáveis. HPH tem sido usado por anos na produção de nanoemulsões para nutrição parenteral. Em contraste com outras técnicas, o escalonamento não representa problema em muitos casos. Homogenizadores de alta pressão impulsiona um líquido com alta pressão (100-200 bar) através de uma estreita fenda (na faixa de poucos micrômetros). O fluido acelera numa curta distância em uma alta velocidade (acima 1000 Km/h). Forças de alto cisalhamento e cavitação desestruturam as partículas na faixa de submicrons. Conteúdo de lipídios até 80% tem sido homogenizado para nanodispersões lipídicas. Os índices de polidispersidade usualmente obtidos são menor que 0,2 (Mehnert e Mader, 2001; Müller et al, 2002b; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Sinha et al, 2010; Das e Chaudhury, 2011).

Duas técnicas têm sido utilizadas para a produção de SLN/ NLC através da HPH: homogeneização à quente e à frio.

3.9.2.2.1.1. Homogeneização por alta pressão à quente

Esta técnica foi inicialmente desenvolvida por Müller e Lucks (1996). Para a obtenção de nanopartículas lipídicas sólidas por homogeneização à quente, o lipídio fundido contendo o ativo, é disperso numa solução aquosa à quente contendo o surfactante quente. Esta dispersão é realizada na mesma temperatura e sob alta velocidade de agitação, ou utilização de ultrassom, formando uma pré-emulsão que a seguir é passada através de um homogeneizador, sob altas pressões e ciclos de homogeneização. A nanoemulsão é resfriada, sendo que a fase lipídica solidifica e forma uma suspensão aquosa de nanopartículas lipídicas. Esta técnica pode ser utilizada para encapsular drogas lipofílicas e insolúveis. Em geral, até mesmo compostos sensíveis à temperatura podem ser processados por causa do tempo de exposição a elevadas temperaturas ser relativamente curto. Para ativos hidrofílicos, contudo, esta técnica não é muito adequada, pois durante a homogeneização da fase lipídica fundida, o ativo sofrerá partição para a fase aquosa, resultando em baixa taxa de encapsulação (Mehnert e Mader, 2001; Souto e Müller, 2005; Souto, 2005; Sinha et al, 2010; Das e Chaudhury, 2011).

3.9.2.2.1.2. Homogeneização por alta pressão à frio

Na técnica HPH à frio, o lipídio fundido contendo o composto ativo é resfriado por meio de gelo seco ou nitrogênio líquido, que são utilizados para aumentar a fragilidade do lipídio e facilitar o procedimento de moagem. A alta velocidade de resfriamento favorece uma distribuição homogênea da droga na matriz lipídica. Após solidificação, a massa lipídica é moída para produzir micropartículas na faixa de 50 - 100 µm. As micropartículas lipídicas são dispersas em solução aquosa fria do surfactante por agitação, produzindo uma macro-suspensão. Esta suspensão é passada através do homogeneizador de alta pressão na temperatura ambiente, e as micropartículas são transformadas em nanopartículas. A cavitação e as forças de cisalhamentos são suficientemente altas para partir as micropartículas e atingir a faixa nanométrica. A técnica de HPH à frio minimiza a exposição térmica da amostra, mas não a evita completamente, devido

à fusão do lipídio na etapa inicial do processo. Desta forma, esta técnica é recomendada para compostos extremamente sensíveis à temperatura e compostos hidrofílicos, que podem sofrer partição da fase lipídica líquida para a fase aquosa durante a HPH à quente. Para minimizar as perdas de compostos hidrofílicos para a fase aquosa da suspensão, água pode se trocada por líquidos com baixa solubilidade do ativo, tais como óleos e polietilenos glicóis de baixo peso molecular (PEG 600 e PEG 800) (Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Sinha et al, 2010; Das e Chaudhury, 2011).

3.9.2.2.2. Microemulsão

A técnica da microemulsão foi desenvolvida por Gasco (1997), e tem sido adaptada ou modificada por diferentes grupos de pesquisa (Cavalli et al, 1996; Cavalli et al, 1998; Cortesi et al, 2002; Igartua et al, 2002; Lim e Kim, 2002). Nesta técnica, o material lipídico é fundido e uma fase aquosa contendo um surfactante (o/w)/ co-surfactante é preparado na mesma temperatura, a aproximadamente 60-70 °C. As fases lipídicas e aquosa são misturadas em uma razão tal que resulta uma microemulsão transparente. A microemulsão é dispersa em água fria (2-10 °C) com agitação, onde a microemulsão quebra em gotas de nanoemulsão ultrafina, que imediatamente cristaliza para formar SLN. Grande diluição da suspensão de partículas devido ao excesso de água (razão da microemulsão à quente para água fria é igual a 1:25 - 1:50) é a principal desvantagem desta técnica. O excesso de água precisa ser removida por ultrafiltração ou por liofilização para obter uma dispersão concentrada. Outra desvantagem deste método é a necessidade de altas concentrações de surfactantes e co-surfactantes, que não é desejável (Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Patidar et al, 2010; Sinha et al, 2010; Das e Chaudhury, 2011).

3.9.2.2.3. Emulsificação-evaporação do solvente

Sjostrom e Bergenstahl (1992) descreveram um método de produção para preparar dispersões de nanopartículas por precipitação em emulsões o/w. O material lipofílico é dissolvido em um solvente orgânico imiscível em água, tais como ciclohexano, clorofórmio ou cloreto de metileno. Esta fase orgânica é emulsificada em fase aquosa, contendo um surfactante o/w por

agitação mecânica. Sob evaporação do solvente orgânico da emulsão o/w obtida, uma dispersão de nanopartícula é formada por precipitação do lipídio no meio aquoso. A etapa de evaporação do solvente deve ser rápida para evitar agregação de partículas. Como o procedimento pode ser conduzido à temperatura ambiente, esta técnica é adequada para drogas termolábeis. A maior desvantagem é o uso de solventes orgânicos (Siekmann e Westesen, 1996; Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Patidar et al, 2010).

3.9.2.2.4. Deslocamento do solvente

A técnica do deslocamento de solvente foi descrita primeiramente para a preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados por Fessi et al (1992). Neste processo, o material lipídico é dissolvido em um solvente semi-polar miscível em água, tais como etanol, acetona ou metanol, e então o composto ativo é dissolvido ou disperso nesta fase. Simultaneamente, uma fase aquosa contendo um surfactante o/w é preparado. A fase orgânica é injetada na fase aquosa sob agitação magnética. Uma mistura é observada devido a miscibilidade das fases. Gotas do solvente do tamanho nanométrico surgem a partir da interface o/w. Estas gotas são rapidamente estabilizadas pelas moléculas do surfactante que estão na fase aquosa até que a difusão do solvente esteja completa e a precipitação lipídica tenha ocorrido (Souto, 2005; Souto e Müller, 2005).

A remoção do solvente pode ser realizada por destilação. Nanopartículas lipídicas são formadas após total evaporação do solvente orgânico miscível em água (Souto, 2005; Souto e Müller, 2005).

3.9.2.2.5. Emulsificação-difusão

A técnica de emulsificação-difusão foi patenteada por Quintanar-Guerrero e Fessi em 1999 (Quintanar-Guerrero et al, 1999), sendo usada para produzir nanopartículas poliméricas baseado em polímeros sintéticos. Contudo, esta técnica tem sido utilizada recentemente para preparar nanopartículas lipídicas (Trotta et al, 2003; Quintanar-Guerrero et al, 2005).

O procedimento envolve o uso de solvente parcialmente solúvel em água tal como álcool benzílico ou tetrahidrofurano, que foi previamente saturado com água para garantir o equilíbrio termodinâmico inicial entre os dois líquidos (água e solvente). O lipídio é dissolvido no solvente saturado, produzindo uma fase orgânica onde o ativo é adicionado. Esta fase orgânica é então emulsificada, sob vigorosa agitação, em uma solução aquosa contendo um agente estabilizador, obtendo uma emulsão o/w. A subsequente adição de água para o sistema, sob agitação mecânica moderada, causa difusão do solvente para a fase externa, e o lipídio começa a precipitar. Dependendo do ponto de ebulição, o solvente pode ser eliminado por ultrafiltração ou por destilação. Após o solvente orgânico ter sido totalmente eliminado, uma dispersão aquosa de nanopartículas lipídicas é formada. Tamanho médio de partículas de 100 nm e distribuição de tamanho muito pequeno são obtidos por este método (Souto, 2005; Souto e Müller, 2005).

3.9.2.2.6 . Nano-emulsificação por métodos de baixa energia

Anton et al (2008), propuseram a existência de uma ligação entre os métodos de produção de nanoemulsão e a geração de nanopartículas, já que a maioria das formulações de nanopartículas são baseadas em emulsões na escala nanométrica, conhecida como nanoemulsão. Portanto, o estudo da formação de nanopartículas inclui o conhecimento da formação de nanoemulsão, pois após um processo de resfriamento, as mesmas geram as nanopartículas lipídicas sólidas (Heurtault et al, 2002; Anton et al, 2008; Gutiérrez et al, 2008).

Nanoemulsões são sistemas transparentes ou translúcidos com tamanho de gotas entre 20 – 200 nm, cineticamente estáveis, porém termodinamicamente instáveis, ou seja, são fases em não equilíbrio e que tendem a aumentar o tamanho das gotas com o tempo, antes da separação de fases (Tadros, et al, 2004; Solans et al, 2005; Pey et al, 2006; Ee et al, 2008; Gutiérrez et al, 2008).

Sendo sistemas em não-equilíbrio, não se formam espontaneamente, conseqüentemente entrada de energia a partir de equipamentos mecânicos ou então a partir de potencial químico dos componentes, é requerida para a sua formação (Tadros et al, 2004; Solans et al, 2005; Anton, et al, 2008).

Os métodos usando energia mecânica, são conhecidos como alta energia, tais como: agitadores de alto cisalhamento, homogenizadores de alta pressão, microfluidizadores e geradores de ultrassom (Solans et al, 2005; Anton et al, 2008). A encapsulação de moléculas sensíveis, tais como peptídeos e proteínas podem sofrer degradação, denaturação ou perda da atividade nos métodos de alta energia (Anton et al, 2008).

Os métodos que utilizam as propriedades físico-químicas do sistema, são chamados de condensação ou de baixa energia, sendo propostos dois grupos na literatura: emulsificação espontânea e inversão de fase por temperatura. Nestes métodos, as nanoemulsões são obtidas como resultado de transições de fase produzidas durante o processo de emulsificação que é conduzido, geralmente a temperatura constante ou a composição constante e mudando-se a temperatura, o bem-conhecido PIT (Tadros et al, 2004; Sadurni et al, 2005; Solans et al, 2005; Pey et al, 2006; Anton et al, 2008).

O método da emulsificação espontânea consiste na rápida difusão do solvente solúvel em água, onde primeiramente a fase oleosa é solubilizada na fase orgânica, e quando as duas fases são misturadas, o solvente move-se em direção a fase aquosa. Entre os trabalhos sobre emulsificação espontânea a literatura enfatiza o método do deslocamento do solvente, também conhecido como efeito Ouzo, que consiste na específica e rápida difusão de um solvente orgânico (acetona, etanol) da fase oleosa para a fase aquosa. O estabelecimento de diagramas de fases é essencial para evidenciar as condições relacionadas á emulsificação espontânea. Outro método citado na literatura é o método do ponto da inversão de fase (EIP). Neste método, a temperatura é fixada e varia-se a proporção da água ou óleo, sendo que durante estas variações, a hidratação do surfactante é potencialmente alterada e assim a sua afinidade pela água e então instabilidades são criadas na rede da microemulsão, resultando em sua quebra para nanoemulsão (Anton et al, 2008).

O método de inversão de fase pela temperatura (PIT), foi introduzido por Shinoda e Saito (1968) e usa as propriedades específicas de surfactantes polietoxilados para modificar as suas propriedades de partição como função da temperatura. Estes tipos de surfactantes tornam-se lipofílicos com o aumento da temperatura devido a de-hidratação das cadeias polietoxiladas. A baixa temperatura a camada de surfactante tem uma curvatura espontânea positiva formando microemulsões o/w. A altas temperaturas, a curvatura espontaneamente torna-se negativa e

forma-se microemulsão w/o. Em temperaturas intermediárias, na temperatura de HLB, a curvatura espontaneamente torna-se próxima de zero e uma fase bicontinua forma-se. O método de emulsificação por PIT utiliza-se do fato que tensões interfaciais extremamente baixas são atingidas na temperatura de HLB. Pelo resfriamento extremamente rápido as emulsões preparadas na temperatura de HLB, podem ser produzidas com tamanho de gota muito pequeno e com estreita distribuição (Izquierdo et al, 2005; Solans et al, 2005; Calderon et al, 2007; Anton et al, 2008; Ee et al, 2008).

O ponto de névoa do tensoativo não-iônico está diretamente relacionado com o seu valor de HLB e com a temperatura de inversão de fase da emulsão, sendo que quanto maior o valor do HLB, maior o valor do ponto de névoa (Na et al, 1999) e quanto maior o ponto de névoa, mais elevado é o ponto de inversão de fase da emulsão (Shinoda e Arai, 1964). Várias substâncias podem afetar o ponto de névoa e consequentemente a temperatura de inversão de fase de uma emulsão, tais como: glicóis, sacarídeos, alquil glucosídeos, polialcoóis, lipídios, fosfolipídios, sais, etc (Shinoda e Arai, 1964; Matero et al, 1998; Na et al, 1999).

Irgatua et al (2002) encapsularam magnetita em nanocápsulas lipídicas através do método de inversão de fase por temperatura, usando oleato de etila e lecitina de soja. Partículas esféricas com 62 nm foram obtidas.

Heurtault et al (2002), descreveram um método de obtenção de nanocápsulas lipídicas, baseado no método PIT com adição de tratamento com ciclos de aquecimento/ resfriamento, para aumentar a qualidade da nanoemulsão, com relação ao tamanho e polidispersidade. As nanocápsulas consistiam de um núcleo líquido oleoso (triglicéride de ácido cáprico/ caprílico) e exibindo uma casca composta por um surfactante amorfo (lecitina de soja) (Souto, 2005; Anton et al, 2008).

Moddarese et al (2009) encapsularam acetato de tocoferol em carreadores lipídicos (LNC), usando o método de inversão de fase por temperatura. Triglicérides de cadeia média foi utilizado como lipídio e como surfactantes foram utilizados lecitina de soja e uma mistura de surfactantes não-iônicos.

Mona et al (2010) estudaram a encapsulação de ibuprofeno em nanocápsulas lipídicas (LNC) por inversão de fase. As nanocápsulas eram compostas por triglicerídeos de cadeia média, lecitina, álcool cetílico e estearílico, obtendo-se partículas com 50 nm de diâmetro.



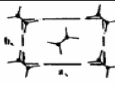
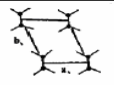








3.9.3. Problemas de produção e estabilidade de nanopartículas lipídicas sólidas

3.9.3.1. Polimorfismo lipídico

Um dos principais problemas associados a nanopartículas lipídicas e sua estabilidade físico-química durante o shelf life é as transformações polimórficas que a matriz lipídica pode sofrer. Polimorfismo, é a habilidade de um composto em cristalizar em mais de uma espécie cristalina distinta em diferentes estruturas. Lipídios podem cristalizar em diferentes estruturas tridimensionais, ilustrados na Tabela 2 (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007).

Glicerídeos cristalizam em diferentes arranjos e exibem polimorfismo com três ou mais formas, enquanto que o polimorfismo em ceras é drasticamente reduzido, sendo que prevalece a forma ortorrômbica e a velocidade de transição polimórfica é lenta (Jenning e Gohla, 2000).

Tabela 2: Estruturas tridimensionais da ordem cristalina de triacilgliceróis (Fonte: Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007).

	Modificação α	Modificação β'	Modificação β
Sistema Cristalino	Hexagonal	Monoclínico	Triclínico
Subcélula	Ortorrômbico	Ortorrômbico	Triclínico
			
			
			

A cristalização de triacilgliceróis a partir da fusão, após rápido resfriamento usualmente ocorre na forma menos estável, modificação α , que se transforma via β' , para a forma mais estável, modificação β , sobre aquecimento ou durante o tempo de estocagem (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007).

Em dispersões coloidais de nanopartículas lipídicas, estas transformações de triacilgliceróis são mais rápidas, e conduzem para mudanças na fração relativa das formas polimórficas (Chapman, 1962; Bunjes et al, 1996; Souto, 2005). Dependendo da natureza química do lipídio e dos parâmetros de produção, diferentes frações de modificações α e β' podem ocorrer. Este fenômeno pode conduzir na redução do ponto de fusão, ou mais precisamente, em mudanças na forma e deslocamento do pico de fusão. Estas formas polimórficas não são estáveis por um longo período, conduzindo para uma transformação gradual para modificações mais estáveis. Isto não é desejado, pois a mudança na estrutura lipídica é responsável pela expulsão do ativo durante a estocagem e mudanças no perfil de liberação do ativo incorporado, bem como mudanças nos parâmetros do tamanho de partícula. (Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007)

3.9.3.2. Gelação

Dispersões aquosas de SLN e NLC de baixa viscosidade tem potencial risco de transformação para um gel viscoso, resultando em perda do tamanho coloidal e aumento do tamanho de partícula, ou seja, ocorrência de agregação. Na maioria destas situações esta transformação ocorre muito rápida e em certo modo imprevisível, e pode estar relacionado a diversos fatores, tais como: contato da dispersão aquosa com superfícies estranhas tais como agulha de seringa usada durante as medidas de tamanho de partículas; aumento das forças de cisalhamento externo, ou seja, estresse mecânico, durante manipulação e transporte da amostra; exposição a altas temperaturas, luz e atmosfera oxidante; formulação preparada com alta concentração de lipídio e elevada força iônica; transformações polimórficas durante a estocagem. (Mehnert e Mader, 2001; Souto, 2005)

A gelação pode ser evitada ou retardada pela adição de co-emulsificante com alta mobilidade (Westesen e Siekmann, 1997; Mehnert e Mader, 2001). Estocagem a temperaturas menores que a temperatura ambiente (25 °C), sob condições de escuro e atmosfera de nitrogênio podem prevenir o crescimento de partícula (Freitas e Müller, 1998).

Observou-se que agregação de partículas foi acompanhada por transformações de formas polimórficas de alta energia (principalmente modificação α) para modificações lipídicas

mais estáveis. Em geral, a próxima etapa após agregação das partículas é o aumento da viscosidade e a formação de um gel relativamente rígido. Um modo interessante de evitar agregação de partículas, é o aprisionamento da nanopartículas lipídicas em cremes e hidrogéis (Souto, 2005).

3.9.4. Aplicações de nanopartículas lipídicas sólidas

Nanopartículas lipídicas sólidas possui interessantes características para propostas terapêuticas. Suas principais características é que elas são preparadas com lipídios e ceras bem tolerados fisiologicamente, muitas das quais com status GRAS. Deste modo, estes carreadores podem ser utilizados para liberação de substâncias ativas para vários órgãos e tecidos. Dependendo do ativo encapsulado, uma alta capacidade de carga pode ser atingida o que assegura a se atingir o nível terapêutico requerido, tendo potencial para aplicação em administração via oral, pulmonar, parenteral, ocular, transdérmica e também como adjuvantes para vacina (Müller et al, 2000; Mehnert e Mader, 2001; Souto e Müller, 2005).

Tratamento tópico de doenças de pele tem a vantagem que altos níveis do ativo podem atingir os sítios da doença e efeitos sistêmicos podem ser reduzidos comparados para administração via oral e parenteral. Nanopartículas lipídicas tem sido investigado para tratamento de doenças de pele, tais como: eczema atópico, psoríase, acne, inflamações e micose de pele. Drogas sob investigação para aplicação dérmica usando nanopartículas são glicocorticóides, retinóides, drogas não-esteroidias anti-inflamatórias, inibidores COX-2 e antimicóticos. Tem sido demonstrado que é possível auxiliar a absorção percutânea com nanopartículas lipídicas. Estes carreadores podem atuar como alvo específicos e melhorar a razão risco/benefício de terapia tópica (Pardeike et al, 2009).

3.9.4.1. Aplicações cosméticas

Uma área de grande potencial para nanopartículas lipídicas sólidas e com um curto tempo para lançamento em mercado são os produtos tópicos, sendo que o campo mais promissor de aplicação é o setor cosmético.

Um dos primeiros produtos baseados em nanopartículas lipídicas foi o Nanobase[®] que consistia em um umedecedor desenvolvido pela Yamanouchi, que patenteou SLN livres de ativos. SLN são adicionados para os cremes contendo os ativos, e a presença de SLN auxilia o efeito, por exemplo, por oclusão da pele. Para aplicação tópica, todos lipídios que são correntemente empregados para a formulação de cremes cosméticos e farmacêuticos podem ser utilizados (Souto e Müller, 2005).

Uma grande variedade de ingredientes cosméticos tais como coenzima Q10, alfa-tocoferol e seus derivados, ácido ferúlico, ácido lipóico, palmitato de ascorbila, perfumes, repelentes de insetos e retinol tem sido incorporado em SLN (Müller et al, 2002a ; Müller et al, 2002b; Souto e Müller, 2005; Souto e Müller, 2008).

Similarmente aos lipossomas, as SLN`s são formadoras de filmes sobre a pele. Resultados obtidos com SLN, sugerem que sobre a pressão de aplicação, as partículas formam um filme coerente, que será capaz de restaurar um filme lipídico danificado sobre a pele, além de tal filme poder ter um efeito oclusivo, que foi demonstrado por medidas em vitro. Para demonstrar este efeito, um creme base e creme base contendo SLN foi aplicado sobre pele de porco. A aplicação de cremes convencionais, livre de SLN, somente alterou levemente a estrutura, enquanto que o resultado obtido para o creme contendo SLN, observou-se um aumento na espessura do estrato córneo (Müller et al, 2000; Müller et al, 2002a; Müller et al, 2002b).

Cremes comerciais contendo retinol foram comparados com SLN carregados com retinol e mostraram um aumento de 33% no nível de umectação, enquanto que os cremes livre de SLN tiveram um aumento de 23%. Além disso, os cremes contendo SLN-retinol, melhoraram a suavidade da pele em 10,3%, enquanto que os cremes livres de SLN, tiveram um aumento de apenas 4,1% (Müller et al, 2000, Müller et al, 2002a; Wissing e Müller, 2003; Müller et al, 2007).

Outra aplicação consiste na proteção de ingredientes ativos contra degradação química, relatados à Ubiquinona (Coenzima Q10) e do retinol (Müller et al, 2000, Müller et al, 2002a; Müller et al, 2007).

Um importante desenvolvimento consiste nas SLN inteligentes, que explora o fato que a SLN pode liberar de modo controlado o ativo incorporado após receber um estímulo inicial.

Tais estímulos pode ser o aumento na temperatura ou a perda de água, que promovem modificações na estrutura cristalina, promovendo a liberação gradual da droga do carreador.

Este efeito foi explorado para liberação controlada de retinol de SLN incorporadas em cremes e hidrogéis (Müller et al, 2000).

Liberação prolongada de perfumes tem a vantagem de criar aplicações uma vez ao dia com efeito prolongado por diversas horas. Isto tem demonstrado ser possível com o uso de nanopartículas lipídicas em comparação com emulsões típicas o/w (Souto e Müller, 2008).

Uma área recentemente descoberta de aplicação do uso de SLN é o uso em cremes protetores solares. Surpreendentemente, foi encontrado que as próprias SLN tem também um efeito protetor, devido ao seu caráter particulado produzem um espalhamento da luz UV, similar ao dióxido de titânio. Também foi encontrado que protetores moleculares e SLN em combinação, mostram um efeito sinérgico. Isto abre a perspectiva de uma nova classe de cremes protetores solares. (Müller et al, 2000; Wissing e Müller, 2003; Souto e Müller, 2005; Villalobos-Hernandez e Müller, 2005; Villalobos-Hernandez e Müller-Goymann, 2006; Souto e Müller, 2008)

Os primeiros dois produtos acabados com NLC, Creme Nanorepair Q10 e Nanorepair Q10 serum, foram introduzidos ao mercado pela companhia alemã Dr. Rimpler GmbH. A introdução no mercado ocorreu na feira de cosméticos “Beauty” em Munique em outubro de 2005. As partículas continham uma alta carga de coenzima Q10 (Müller et al, 2007; Pardeike et al, 2009; Pardeike et al, 2010).

NLC contendo óleo de groselha negra é a base para três produtos cosméticos da linha prêmio (IOPE) da companhia coreana Amore Pacific, que anunciou o lançamento destes produtos em Seul, em primeiro de setembro de 2006, sendo a introdução no mercado em outubro de 2006. Estes produtos exploram a oclusão e efeito de hidratação em combinação com efeitos especiais dos ácidos graxos ômega-3, que inibem a expressão de metaloproteinases tipo 1 (MMP-1) após exposição UV. A MMP-1 está envolvida em degradação de proteínas estruturais da pele como colágeno e elastina (Müller et al, 2007; Pardeike et al, 2009).

Após o lançamento dos produtos Nanorepair pela Dr. Rimpler e os produtos da sul-coreana Amore Pacific, mais produtos cosméticos foram lançados. A empresa francesa Isabelle

Lancray lançou quatro produtos na linha “Surmer” (“através do oceano”). Nesta linha NLC são incorporados com óleo de Kukui do Hawai. Este óleo é usado tradicionalmente nos cuidados para pele, especialmente para pele sensível, tais como infantis e bebês. A companhia Beate Johnen produziu os primeiros dois produtos no final de 2006. (Müller et al, 2007; Pardeike et al, 2009)

No início de 2007 e 2008, outras empresas lançaram produtos contendo nanopartículas lipídicas sólidas no mercado cosmético, entre elas: La prairie, School e Dr. Thesis (Pardeike et al, 2009; Puri et al, 2010).

3.9.4.2. Aplicações em cabelos

A maioria dos produtos de base nanotecnológica lançados no mercado cosmético estão destinados para os cuidados da pele, sendo as aplicações de composições para os cuidados para o cabelo encontradas principalmente em patentes internacionais.

Grolier et al, patentearam em 1991 uma composição cosmética para os cuidados dos cabelos contendo um polímero formador de filme e silicone incorporados em uma microdispersão de cera (carnaúba e candelila) em meio aquoso contendo surfactantes aniônicos e não-iônicos, com tamanho de partículas inferior a 500 nm e proporcionando ao cabelo suavidade, bem como fixando a sua forma.

Guy et al, patentearam em 1994, uma composição cosmética para cabelo contendo microdispersão de cera (carnaúba, parafina e candelila) em meio aquoso contendo surfactantes não-iônicos e aniônicos, proporcionando a melhora da fixação da forma e volume do cabelo, retardando a aparência do aspecto oleoso, bem como proporcionando suavidade, elasticidade e brilho. O tamanho das partículas foi inferior a 500nm.

Zulli et al (1996), encapsularam Uvinil T 150 (filtro UV-B) em nanopartículas lipídicas, sendo observado uma afinidade quase cem vezes maior ao cabelo pelas partículas carregadas positivamente quando comparados com as partículas com carga negativa.

Yoshihiro et al, patentearam em 2000, um sistema composto de partículas de ceras (Candelila, carnaúba) com diâmetro de 30 nm, dispersas em meio aquoso contendo surfactantes

não-iônicos e anfóteros que proporcionaram ao cabelo suavidade, facilidade de penteabilidade e brilho.

Niebauer e Lane (2006), patentearam uma composição de partículas de ceras dispersas com diâmetro inferior a $0,15\ \mu\text{m}$, em meio aquoso contendo surfactantes aniônico e anfotérico, que proporcionaram volume e condicionamento aos cabelos.

Herzog patenteou em 2006, composições de nanopartículas lipídicas sólidas para incorporação de filtros UV para aplicação para pele e cabelo, em meio aquoso contendo surfactante não-iônicos, onde houve melhora na solubilidade dos filtros UV solúveis em óleo, bem como melhora de sua eficiência.

4. PREPARAÇÃO DE PARTICULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS POR *SPRAY COOLING*

A finalidade deste capítulo é apresentar os materiais e métodos utilizados na preparação e caracterização das micropartículas lipídicas sólidas obtidas por *spray cooling*.

4.1. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1. Materiais

4.1.1.1. *Activeshine Amazon*

O *Activeshine Amazon* foi fornecido pela empresa Chemyunion Química Ltda (Sorocaba, SP) e consiste numa mistura de triglicerídeos naturais de origem vegetal extraídos a partir de palmeiras da região amazônica, com propriedade cosmética de doador de brilho capilar. Os triglicerídeos são obtidos a partir de castanhas de murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e babaçú (*Orbygnia speciosa*), e foram utilizados na preparação das partículas como ativo cosmético. Possui ponto de fusão de aproximadamente 25 °C e apresenta uma composição química constituída principalmente de ácidos graxos saturados, com a seguinte distribuição (Chemyunion, 2009; Chemyunion, 2011):

Ácido láurico (C12:0) : 52,0 %

Ácido mirístico (C14:0) : 18,0 %

Ácido palmítico (C16:0): 7%

Ácido esteárico (C18:0): 2%

Ácido oleico (C18:1) : 8,5%

4.1.1.2. Cera de carnaúba (Tipo I)

A cera de carnaúba do tipo I, utilizada como lipídeo carreador ou estrutural na preparação das partículas, é uma cera natural vegetal, sendo fornecida pela Comarplast aditivos (São Paulo, SP). Esta cera pode ser encontrada em vários tipos (I a IV), sendo que todos os tipos

possuem basicamente a mesma composição química, diferenciando-se na coloração, onde a mais clara é a cera tipo I. É extraída a partir das folhas da palmeira brasileira da espécie *Copernicia cerifera*, que cresce principalmente na região nordeste.

Possui ponto de fusão entre 81 - 86 °C, e consiste de uma mistura complexa de ésteres de alto peso molecular de ácidos e hidroxiácidos. Os principais componentes químicos da cera de carnaúba são ésteres alifáticos, álcoois livres, ésteres ω-hidroxilados, diésteres alifáticos p-metoxicinâmicos e diésteres alifáticos p-hidroxicinâmicos, compostos de cadeias de diversos tamanhos, onde predominam ácidos com 26 carbonos e álcoois com 32 carbonos. (Vandenburg e Wilder, 1970; Emas e Nyqvist, 2000; Villalobos-Hernandez e Muller-Goymann, 2006; Comarplast, 2009;)

4.1.1.3. Cera de silicone

A cera de silicone, utilizada como lipídeo carreador na preparação das partículas, é uma cera de origem sintética, obtida a partir de silicone e olefinas, que foi fornecida pela Dow Corning (São Paulo, SP), sendo comercializada com o nome Dow Corning AMS-C30. Possui ponto de fusão igual a 70 °C e exibe propriedades físico-químicas que são típicas de silicone e hidrocarbonetos orgânicos. A Figura 10, apresenta a sua estrutura química (Dow Corning, 2009).

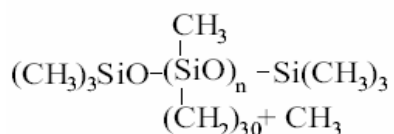


Figura 10: Estrutura química da cera de silicone (Fonte: Dow Corning, 2009).

4.1.1.4. Microparafina

A microparafina, também conhecida como cera microcristalina ou Parafina 170/190, foi utilizada como lipídeo carreador na preparação das partículas, e consiste em uma cera de origem de petróleo, sendo fornecida pela Comarplast Aditivos (São Paulo, SP). Quimicamente, a microparafina contém uma alta concentração de hidrocarbonetos ramificados e uma menor

concentração de hidrocarbonetos aromáticos. O peso molecular de microparafinas varia entre 580 - 700, contendo entre 41 - 50 átomos de carbono. Uma propriedade das microparafinas é que formam cristais pequenos e irregulares. Possui um ponto de fusão de aproximadamente 60 °C (Warth, 1947; Bennett, 1963; Giavarini e Pochetti, 1973; Comarplast, 2009).

4.1.2. Métodos

4.1.2.1. Preparação das misturas lipídicas para caracterização por difração de raios-X e DSC

Foram preparadas 10g de misturas lipídicas contendo 30%, 50%, 70% de *Activeshine Amazon* com cada uma das ceras: carnaúba, silicone e parafina. Estas misturas foram fundidas entre 100 – 110 °C, em banho de óleo térmico e mantidas sob agitação magnética por 10 minutos e a seguir espalhadas na forma de uma fina película, sobre uma superfície de alumínio. A seguir, esta mistura foi transferida para uma geladeira, por 15 minutos, numa temperatura entre 5 - 10 °C, para solidificação. Estas misturas foram caracterizadas por difração de raios-X e DSC e comparadas com as respectivas micropartículas obtidas com estas misturas.

4.1.2.2. Preparação das micropartículas lipídicas sólidas

Para a produção das micropartículas, 100g de cada cera e 100g das misturas lipídicas compostas por *Activeshine Amazon* e cera (carnaúba, silicone e parafina), nas proporções de 30, 50 e 70% de cada cera, foram fundidas entre 100 - 110 °C e mantidas sob agitação magnética por 10 minutos. A seguir, cada mistura fundida foi transferida para o reservatório de produto, mantido a 110 °C.

Após todas as condições do equipamento estarem estabilizadas, regulou-se a pressão desejada do ar, e abriu-se a válvula do compartimento de produto até a metade do máximo da abertura. O produto percorreu a coluna de transferência (mantida a 95 °C), sendo direcionado para o atomizador tipo duplo-fluído ($\varnothing=0,7$ mm), com temperatura do ar igual a 125 °C e com pressão variável entre 5 a 20 psi. O processo de atomização ocorreu dentro da câmara de resfriamento, sendo as partículas coletadas num recipiente fechado contido dentro da câmara

refrigerada (mantida entre 0 – 10 °C), onde ocorreu o processo de cristalização, devido a baixa temperatura.

Todas as partículas foram preparadas no equipamento *spray cooling*, cujo representação esquemática está ilustrada na Figura 11.

As condições do equipamento, em todos os experimentos, foram controladas nas seguintes condições:

- ✓ Temperatura do banho de óleo de silicone que alimenta o reservatório de amostra: 110 °C
- ✓ Temperatura do ar que passa pelo atomizador: 125 °C.
- ✓ Abertura da válvula que alimenta o atomizador: 50% aberta.
- ✓ Pressão do ar que alimenta o atomizador: variável entre 5, 10, 15 e 20 psi.
- ✓ Temperatura do banho de água que alimenta a coluna que está conectada com o atomizador: 95 °C.
- ✓ Temperatura da câmara fria, contendo o recipiente coletor das partículas solidificadas: entre 0 a 10 °C.
- ✓ Tipo de atomizador: Duplo Fluido ($\varnothing = 0,7$ mm)

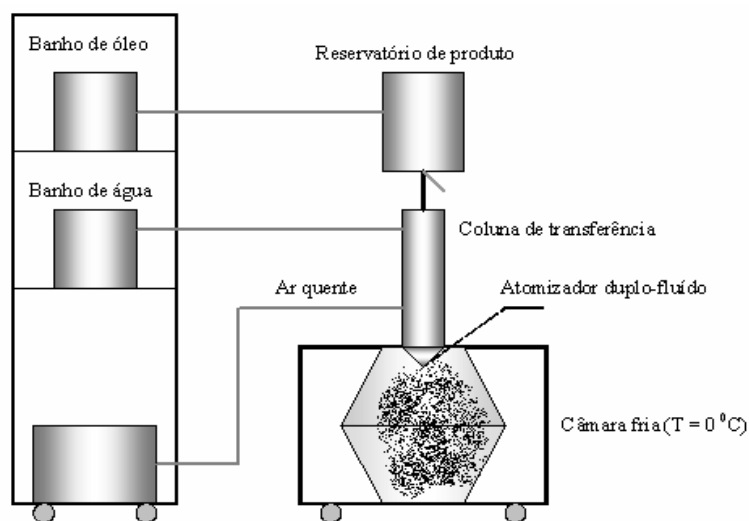


Figura 11: Diagrama esquemático do equipamento, *spray cooling*, utilizado para os testes de formação de partículas.

4.1.2.3. Planejamento Estatístico de Experimentos

4.1.2.3.1. Ensaios preliminares

Foram realizados ensaios preliminares para uma triagem e verificação da influência de fatores como concentração da cera e pressão do ar de atomização, sobre o tamanho das partículas. Estes testes foram realizados conforme procedimento descrito no item 4.1.2.2.

4.1.2.3.2. Ensaios para a construção do planejamento estatístico

Após os testes realizados para a triagem inicial, onde estudou-se a influência das variáveis concentração da cera na mistura lipídica e pressão do ar de atomização sobre o diâmetro das partículas, definiu-se os níveis máximo (nível +1) e mínimo (nível -1) de cada fator, sendo realizado um planejamento fatorial 2 x 2 (Tabelas 3 e 4). Foram realizados experimentos com o objetivo de otimizar estas variáveis que afetam o tamanho das partículas, sendo utilizado o método com três pontos centrais (nível 0) para o cálculo do erro experimental, com a finalidade de ajustar os dados para um modelo linear, requerendo para isto, um total de 7 experimentos (Bruns et al, 1995; Rodriguez e Iemma, 2005).

Este planejamento foi realizado para os três tipos de ceras: carnaúba, silicone e parafina.

Tabela 3: Variáveis utilizadas no Planejamento fatorial 2x2 com seus respectivos níveis.

Variável	Nível -1	Nível 0	Nível +1
Pressão do ar de atomização (psi)	5	12,5	20
% Cera na mistura lipídica	30	50	70

Tabela 4: Planejamento fatorial 2x2, com três pontos centrais.

Ensaio	Pressão do ar	% Cera
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+
5	0	0
6	0	0
7	0	0

4.1.2.3.3. Ensaios para ajuste ao modelo quadrático

Para as ceras de silicone e parafina, como o modelo linear não ficou bem ajustado aos dados experimentais foi necessário realizar um número adicional de experimentos em mais níveis (níveis +1,41 e -1,41) com a finalidade de ajustar para um modelo quadrático. Para este ajuste foi utilizado o planejamento tipo estrela, conforme ilustrado na Figura 12 (Bruns et al, 1995; Rodriguez e Iemma, 2005).

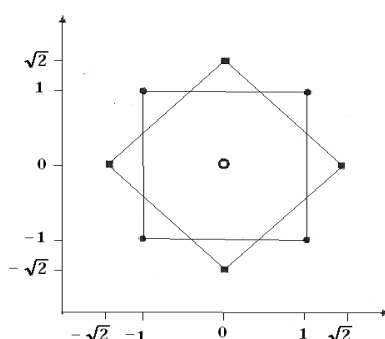


Figura 12: Planejamento estrela para 2 fatores.

Para a realização do planejamento tipo estrela, bastou acrescentar ao planejamento inicial um planejamento idêntico, porém girado de 45 graus em relação à orientação de partida.

Os experimentos adicionais definidos pelo novo planejamento realizado para as ceras de silicone e parafina, estão descritos nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5: Níveis para o planejamento fatorial estrela, 2x2 com ponto central e com pontos axiais, realizados para a cera de silicone e parafina.

Variável	Nível -1,414	Nível -1	Nível 0	Nível +1	Nível +1,414
Pressão do ar (psi)	1,895	5	12,5	20	23,105
%Cera na mistura lipídica	21,72	30	50	70	78,28

Como o manômetro do equipamento era analógico, foi necessário realizar aproximação dos valores de pressão para os pontos axiais, de 1,895 para 2 psi e de 23,105 para 23 psi.

Tabela 6: Planejamento Fatorial 2x2, tipo estrela, contendo os pontos axiais.

Ensaio	Pressão/ psi	Cera/ (%)
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	-1,41	0
6	1,41	0
7	0	-1,41
8	0	1,41
9	0	0
10	0	0
11	0	0

Os quatro experimentos adicionais em relação ao planejamento inicial realizado, estão destacados em cinza.

4.1.2.3.4. Análise estatística

O programa Statística 7.0 foi utilizado para análise dos resultados obtidos nos experimentos de planejamento estatístico, tais como cálculos dos efeitos principais e de interação, cálculos dos coeficientes dos modelos, análise de variância (ANOVA), gráficos de Pareto e construção dos modelos de superfície de resposta.

4.1.2.4. Caracterização das ceras, misturas e partículas lipídicas

O *Activeshine Amazon*, as ceras puras (Cera de Carnaúba, Cera de silicone e Parafina), bem como as misturas lipídicas das ceras com *Activeshine Amazon* contendo 30%, 50% e 70% de cada cera, foram caracterizadas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), para avaliação do comportamento térmico com relação à fusão e cristalização e por Difração de Raios-X de grande ângulo (WAXS), para avaliação da capacidade de incorporação do ativo (*Activeshine Amazon*). As micropartículas lipídicas obtidas a partir destas misturas, foram caracterizadas por microscopia ótica para análise de diâmetro de partículas e morfologia e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

4.1.2.4.1. Comportamento térmico por DSC

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é frequentemente usada para proporcionar informações sobre as propriedades físicas e energéticas de um composto ou formulação. DSC mede a perda ou ganho de calor resultante de mudanças físicas ou químicas dentro da amostra como função da temperatura.

Há dois tipos de instrumentos, o DSC por fluxo de calor e o DSC por compensação da potência. A instrumentação que é usualmente usada é o sistema de fluxo de calor (Figura 13) (Bunjes e Unruh, 2007).

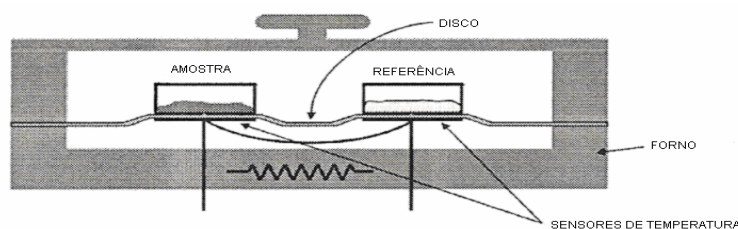


Figura 13: Representação esquemática do sistema DSC de fluxo de calor (Fonte: Bunjes e Unruh, 2007).

Neste sistema, há dois suportes de amostra idênticos, que são aquecidos ou resfriados, de modo linear. Um suporte contém um cadinho com amostra e o outro contém a referência (usualmente um cadinho vazio). Sob condições simétricas, a temperatura em ambos cadinhos aumenta na mesma velocidade durante a programação e não há diferença de temperatura entre a amostra e a referência até que não haja mudanças estruturais na amostra. Quando a amostra sofre uma mudança, como por exemplo uma transição de fusão, isto consome energia, ou seja calor, do sistema, que conduz a uma diferença de temperatura entre a amostra e a referência. No DSC por fluxo de calor, esta diferença é medida e convertida em um sinal através de um procedimento calibrado. Por convenção, eventos endotérmicos são mostrados como sinais voltados para cima, no DSC por compensação e para baixo no DSC por fluxo de calor. O sinal obtido em medidas de DSC é o fluxo de calor em função da temperatura, e a integração do sinal proporciona a troca de calor durante a transição (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007)

Exemplos de processos que absorvem calor (medidas endotérmicas) são fusão, ebulição, sublimação, vaporização, dessolvatação e transições sólido-sólido. Cristalização é um processo exotérmico, ou seja, há liberação de energia. Medidas qualitativas destes processos têm muitas

aplicações, tais como pureza, polimorfismo, solvatação, degradação e compatibilidade de substâncias. DSC tem sido utilizado para caracterizar o estado e o grau de cristalinidade de dispersões de lipídios, sistemas semi-sólidos, polímeros e lipossomas (Souto, 2005). Permite o estudo do comportamento de fusão e cristalização de materiais cristalinos, como nanopartículas lipídicas. A quebra ou fusão da estrutura cristalina pelo aquecimento ou resfriamento da amostra fornece informações sobre o polimorfismo, ordenamento cristalino, misturas eutéticas ou, no caso de SLN e NLC, interações do ativo e lipídeo, bem como o comportamento de mistura de lipídios sólidos com lipídios líquidos, tais como óleos (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007).

Em geral, uma redução no ponto de fusão é observado quando transforma-se o lipídeo puro para forma de nanopartículas. Esta depressão é descrita pela equação de Gibbs-Thomson (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007):

$$\ln (T/T_0) = - (2\gamma \times V_s)/(r \times \Delta H), \quad (2)$$

onde:

T = Temperatura de fusão da partícula com raio r

T₀ = Temperatura de fusão do material puro

γ = Tensão interfacial na interface sólido-líquido

V_s = volume específico do sólido

ΔH = Calor específico de fusão ou entalpia

Uma redução adicional no ponto de fusão ocorre quando um composto estranho é dissolvido na matriz lipídica, tais como moléculas de surfactante que sofrerão partição da fase aquosa para a fase lipídica.

O índice de cristalinidade (IC) é um parâmetro útil para comparar a cristalinidade nas formulações emulsionadas, sendo definido como o percentual da matriz lipídica que tem recristalizado durante o tempo de estocagem. O IC pode ser calculado de acordo com a seguinte equação:

$$IC (\%) = \Delta H_{PL} / (\Delta H_{LP} \times C) \quad (3)$$

onde:

ΔH_{PL} : Entalpia de fusão da dispersão de SLN/ NLC

ΔH_{LP} : Entalpia de fusão do lipídeo puro

C: Concentração percentual da fase lipídica

No caso de misturas lipídicas, uma modificação na equação (3), torna possível a determinação do grau de cristalinidade da matriz lipídica, de acordo com a equação (4).

$$IC (\%) = (\Delta H_{ML} / \Delta H_{CP}) \times 100 \times f \quad (4)$$

onde:

ΔH_{CP} : Entalpia de fusão da cera pura

ΔH_{ML} : Entalpia de fusão da mistura lipídica

f: Fator que considera a concentração da cera na matriz lipídica

Neste trabalho, foram realizadas medidas de DSC em um equipamento DSC da TA Instruments (DSC 2920, New Castle, DE). A quantidade de 5 - 10 mg de amostra de mistura lipídica, lipídeo puro e partículas lipídicas foram acuradamente pesadas em cadinhos de alumínio. O comportamento térmico na fusão e cristalização foi acompanhado com a temperatura para as misturas lipídicas e lipídios puros, enquanto que para as partículas foi acompanhado apenas o comportamento no aquecimento.

Para o registro das curvas de aquecimento e resfriamento das misturas lipídicas foi utilizado a seguinte programação: resfriamento a uma taxa de 10°C/minuto até -10°C, manutenção em -10°C por 5 minutos, aquecimento de -10 a 115 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/ min, manutenção a 115 °C por 5 minutos e resfriamento para -20°C a uma taxa de 10°C/minuto. A referência utilizada foi um cadinho de alumínio vazio e o equipamento foi calibrado com Índio. Para as curvas de resfriamento foi utilizado a seguinte programação: aquecimento de -20 a 120 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/ min, e a seguir resfriamento com uma velocidade de 10 °C/ min., usando Nitrogênio líquido.

Para o registro das curvas de aquecimento e resfriamento das partículas lipídicas foi utilizado a seguinte programação: resfriamento a uma taxa de 10°C/minuto até -10°C,

manutenção em -10°C por 5 minutos, aquecimento de -10 a 115°C a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

No gráfico de DSC, a temperatura de início (também conhecida como temperatura on set) é a temperatura na qual se inicia o processo (de cristalização ou fusão), a temperatura final é aquela na qual o processo termina e a temperatura do pico é aquela na qual o efeito é máximo e a área mostra a intensidade do efeito (entalpia).

Embora o método DSC seja capaz de monitorar e quantificar eventos térmicos na amostra e identificar as temperaturas nas quais estes eventos ocorrem, esta é uma técnica que não revela diretamente a causa do evento térmico. A natureza exata das transições tem que ser determinadas com métodos complementares, tais como difração de raios-X (Souto, 2005).

4.1.2.4.2. Difração de raios-X

Uma importante técnica para estabelecimento da reprodutibilidade da forma polimórfica entre diferentes lotes é a difração de raios-X, que pode ser de pequeno (SAXS) e grande ângulo (WAXS). A Figura 14, ilustra a teoria desta técnica.

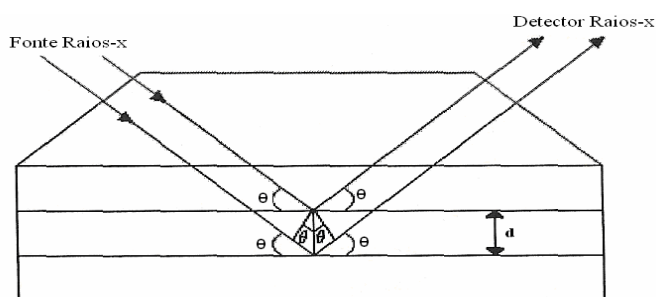


Figura 14: Representação esquemática da difração de raios-X (Fonte: Souto, 2005)

A única diferença entre os dois métodos é a faixa de ângulos de espalhamento, 2θ . Enquanto que o equipamento de grande ângulo cobre entre 5 a 180° , os equipamentos de baixo ângulo cobrem de $0,01$ a 3° (Bunjes e Unruh, 2007).

A maioria dos estudos de difração de raios-X que tem sido publicado para nanopartículas lipídicas são investigações de difração de grande ângulo (Bunjes e Unruh, 2007).

Quando um raio-X monocromático é focado sobre um cristal, há espalhamento dos raios-X a partir de átomos dispostos regularmente interfere um com o outro, dando sinais fortes de difração em direções particulares, desde que as distâncias interatômicas sejam da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda dos raios-X. As direções dos raios difratados estão relacionados com a forma e a dimensão das unidades de célula da estrutura cristalina. A intensidade da difração depende da disposição dos átomos dentro da unidade da célula. Esta técnica permite diferenciar materiais amorfos de materiais cristalinos. Materiais cristalinos mostram muitas bandas de difração enquanto que compostos amorfos apresentam uma linha base mais ou menos regular (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007).

O cristal difrata raios-X similar à uma grade de difração, onde o plano difrata a luz. O cristal tridimensional funciona como uma série de planos de grade sobpostas uma sobre a outra. O comprimento de onda dos raios-X, λ , está relacionado ao ângulo de incidência, θ , e para a distancia interatômica, d , através da equação de Bragg's :

$$d = \lambda / (\sin 2 \theta) \quad (5)$$

Para um cristal simples, os raios-X difratados consistem de poucas linhas. Com pó, devido a distribuição aleatória dos cristais, o padrão de difração consiste de uma série de cones concêntricos com um ápice comum da amostra. Os átomos no cristal possuem a potência de difração do raios-X. Cada substância espalha o raio em um padrão de difração particular, produzindo uma impressão digital para cada átomo do cristal ou da molécula. Difração de raios-X tem sido usado para estudar a estrutura molecular e polimorfismo de nanopartículas lipídicas e lipídios (Souto, 2005; Bunjes e Unruh, 2007).

No presente trabalho, caracterizou-se as misturas lipídicas e as partículas por difração de raios-X de grande ângulo (WAXS, $2\theta = 2 - 60^\circ$). As amostras, foram submetidas a análise de difração de raios-X em aparelho Philips modelo PW1050 (Amedo, Holanda). Para as medidas foi utilizado radiação de cobre (radiação Cu-K α , $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), voltagem de 40 kV, corrente de 30 mA, intervalo de medida em 2θ de $0 - 60^\circ$, e um passo de 0,02, com tempo de contagem de 2s por passo. O aparelho foi equipado com geometria Bragg-Brentano.

4.1.2.4.3. Diâmetro médio das micropartículas lipídicas sólidas

Microscópios são aparelhos nos quais lentes de vidro são associadas de tal forma que se consiga reproduzir para o olho humano, uma imagem aumentada e detalhada de objetos, células, tecidos e órgãos, que à olho nu não seria possível de se observar mais detalhes. O microscópio de luz é assim chamado devido sua fonte luminosa que é uma luz branca oriunda de um filamento de tungstênio. O conjunto de lentes é formado pelas objetivas e oculares. A objetiva, a primeira lente, e a que está mais próxima do objeto, capta a luz filtrada pelo condensador e projeta uma imagem real, invertida e aumentada da estrutura. A lente ocular, presta-se a aumentar a imagem projetada pela objetiva, para ser captada pelo olho do observador. No microscópio ótico, a luz que chega aos nossos olhos para formar a imagem, atravessa primeiro o objeto em estudo. Por isto, o material a ser observado não pode ser opaco (Marchi e Castro, 2005).

Na microscopia de luz existem vários tipos de aparelhos, os quais apresentam sistemas de lentes e filtros que selecionam um ou outro tipo de luz, diversificando as imagens formadas. Estes aparelhos são chamados microscópios especiais, entre os quais estão: microscópio de campo claro, campo escuro, fluorescência, invertido, confocal (microscopia de varredura confocal) e de polarização (Marchi e Castro, 2005).

O tamanho das partículas que podem ser visualizadas por microscopia é limitada devido a difração da luz usada para formar a imagem. A ampliação total obtida com o microscópio óptico consiste no produto da ampliação da objetiva pela ampliação da ocular. não ultrapassando 1.500 a 2.000 vezes. A resolução do microscópio é dada aproximadamente como o comprimento de onda da luz dividida pela abertura numérica da objetiva do microscópio, sendo o limite de detecção do microscópio ótico de aproximadamente 0,2 μm . (Marchi e Castro, 2005; Goldenstein, 2011)

Neste trabalho, amostras de cada formulação foram espalhadas em lâminas de vidro, sem que nenhuma pressão fosse exercida sob as mesmas, e observadas em microscópio ótico LEICA DMLM modelo Q500Iw (Leica, Inglaterra), sendo as imagens capturadas usando uma câmera digital controlada pelo programa Leica Qwin. Foram geradas imagens utilizando objetiva de 50x, e realizadas medidas de diâmetro médio de aproximadamente 150 partículas,

com auxílio deste programa. As médias, desvio padrão foram feitos com o auxílio do programa Microsoft Office Excel versão 2003 (Chambi et al, 2008).

4.1.2.4.4. Morfologia

O poder de resolução do microscópio óptico está limitado pela abertura numérica e pelo comprimento de onda da radiação. Não sendo possível aumentar a abertura numérica, a solução passou pela utilização de radiação de menor comprimento de onda (Marchi e Castro, 2005).

A microscopia eletrônica de varredura é útil desde que permite a visualização de partículas muito menores que 1 μm , permitindo alcançar aumentos de até 900.000 vezes, mas para a análise de materiais, normalmente o aumento é da ordem de 10.000 vezes. A imagem é formada pela incidência de um fino feixe de elétrons, ao invés da radiação da luz, sob condições de vácuo. Como resultado da interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra, uma série de radiações são emitidas tais como: elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios-X característicos, elétrons Auger, fótons, etc. Na microscopia eletrônica de varredura os sinais de maior interesse para a formação da imagem são os elétrons secundários e os retroespalhados. A medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem imagem de topografia da superfície da amostra e são os responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução, já os retroespalhados fornecem imagem característica de variação de composição (Duarte et al, 2003; Maliska, 2011).

Materiais não condutores de corrente elétrica, para serem analisados, devem ser previamente metalizados. A metalização consiste na precipitação à vácuo de uma película micrométrica de material condutor (ouro ou carbono) à superfície do material, possibilitando a condução de corrente elétrica. (Duarte et al, 2003).

Neste trabalho, a caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foi realizada em equipamento da marca LEICA, modelo LEO440i. As amostras de partículas foram fixadas em porta-amostra através de fita adesiva dupla-face de carbono, recobertas com ouro (sob vácuo) e posteriormente visualizadas.

4.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo tem a finalidade de discutir e apresentar os resultados obtidos da caracterização e planejamento fatorial das micropartículas sólidas lipídicas por *spray cooling*.

4.2.1. Caracterização das misturas

4.2.1.1. Comportamento térmico na fusão e cristalização (DSC)

As Figuras 15, 16 e 17 apresentam o comportamento térmico, na fusão e cristalização do *Activeshine Amazon* e das ceras puras (Cera de carnaúba, silicone e parafina), assim como as misturas lipídicas de cada cera com *Activeshine Amazon* em diferentes proporções (30, 50 e 70%).

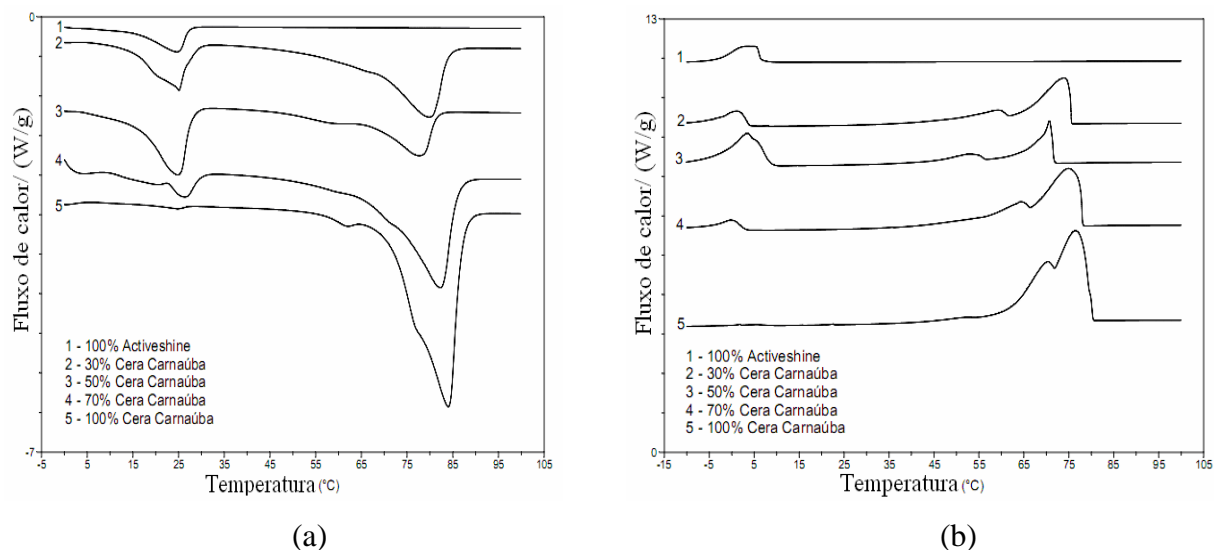


Figura 15: Termogramas (DSC) da cera de carnaúba e suas misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* nas proporções de 30, 50 e 70%. Comportamento térmico na fusão (a) e cristalização (b).

É possível verificar a presença de um ombro ao lados dos picos principais de fusão, em todos termogramas registrados no aquecimento ou comportamento na fusão (Figuras 15a, 16a e 17a), indicando a presença de mais de uma forma cristalina. Nos termogramas de cristalização (15b, 16b e 17b) a presença de diferentes formas cristalinas fica mais evidente, através de uma melhor separação entre os picos.

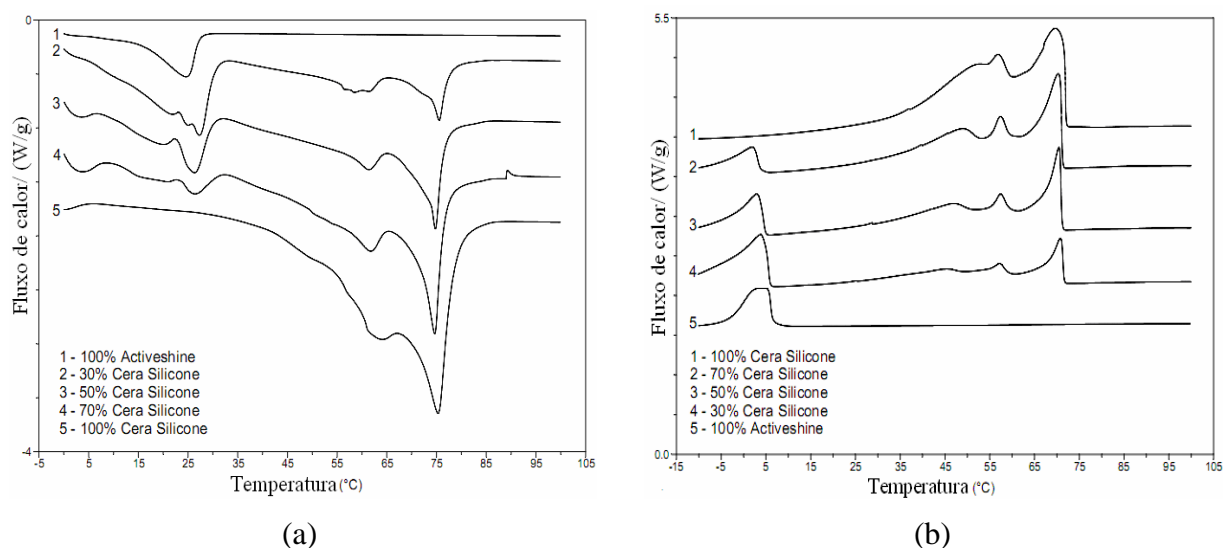


Figura 16: Termogramas (DSC) da cera de silicone e suas misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* nas proporções de 30, 50 e 70%. Comportamento térmico na fusão (a) e cristalização (b).

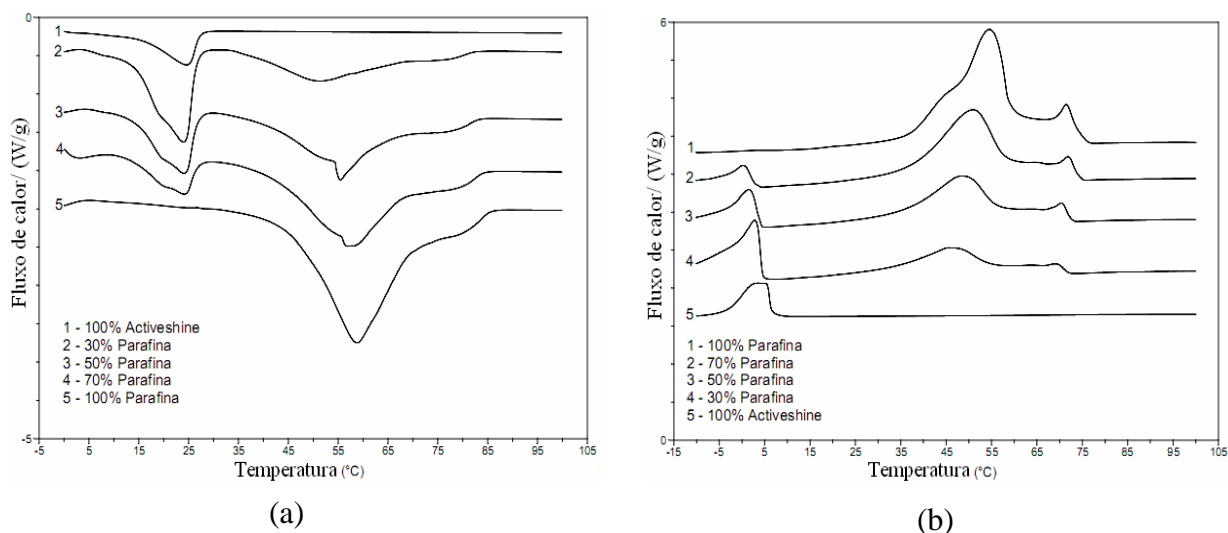


Figura 17: Termogramas (DSC) da parafina e suas misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* nas proporções de 30, 50 e 70%. (a) Comportamento térmico na fusão e (b) comportamento térmico na cristalização.

A cera de carnaúba apresenta um pico endotérmico, próximo a 85°C , o que confirma dados de literatura sobre esta cera, que apresenta um pico largo próximo a $83\text{-}90^{\circ}\text{C}$ (Hwang et al, 2004; Villalobos-Hernandez and Muller-Goymann, 2006; Albertini et al, 2009).

O termograma da cera de parafina também está coerente com dados de literatura que cita a presença de um pico largo na região próximo a 60°C para a microparafina, enquanto que para

a parafina comum o pico de fusão estaria localizado na região de 49°C (Giavarini e Pocheti, 1973).

Por estes termogramas, podemos observar que a medida que aumentamos a concentração das ceras na admistura lipídica com *Activeshine Amazon*, ocorre a diminuição do pico de fusão em 25°C , ocorrendo o mesmo com o pico de cristalização em 5°C , característicos do *Activeshine Amazon*. Somente a partir de 70% de concentração de cada cera na admistura lipídica, ocorre uma diminuição intensa do pico correspondente a fusão e cristalização do *Activeshine Amazon*, significando que é necessário uma alta concentração da cera para a incorporação do ativo na cera, obtendo-se deste modo uma matriz lipídica homogênea.

Este resultado foi constatado com as três ceras (silicone, parafina e carnaúba), sendo mais evidente com as cera de carnaúba e silicone. Apesar da necessidade de uma alta concentração de cera para ter-se uma matriz lipídica mais homogênea, podemos verificar que as misturas lipídicas obtidas a partir de 30% das ceras, embora não homogêneas, também poderiam ser adequadas para obtenção de partículas lipídicas sólidas, pois apresentam picos de fusão e de cristalização acima de 40°C bastante evidentes, o que é fundamental no processo de formação de partículas via *spray cooling* e também caracteriza uma partícula lipídica sólida que deve apresentar ponto de fusão acima de 40°C (Souto, 2005; Souto e Müller, 2005; Müller et al, 2007; Pardeike et al, 2009).

4.2.1.2. Difração de raios-X de grande ângulo (WAXS)

As Figuras 18, 19 e 20 apresentam os difratogramas das ceras de carnaúba, silicone e parafina e das misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* em diferentes proporções (30, 50 e 70%). Podemos verificar um padrão de difração muito similar para as três ceras, sendo que as três apresentam uma estrutura mais cristalina que o *Activeshine Amazon*, que é evidenciado pela presença de dois picos finos e intensos (2θ entre $20 - 25^{\circ}$), enquanto que o *Activeshine Amazon* apresenta um pico menos intenso e uma banda larga ($2\theta = 20^{\circ}$), característico de compostos mais amorfos. Por estes difratogramas, podemos verificar também que a medida que aumenta-se a concentração da cera, a banda larga em $2\theta = 20^{\circ}$, característica do *Activeshine Amazon*, diminui intensamente, o que está relacionado com a incorporação do *Activeshine Amazon* na matriz

lipídica composta pela cera, obtendo-se deste modo um material homogêneo e menos cristalino. Nos difratogramas das misturas lipídicas do *Activeshine Amazon* com as ceras de carnaúba e silicone, verifica-se que a partir de 50% da cera já se evidencia uma diminuição significativa do pico largo devido a incorporação do *Activeshine Amazon*, enquanto que para a Parafina somente a partir de 70% da cera na admistura lipídica isto pode-se ser evidenciado.

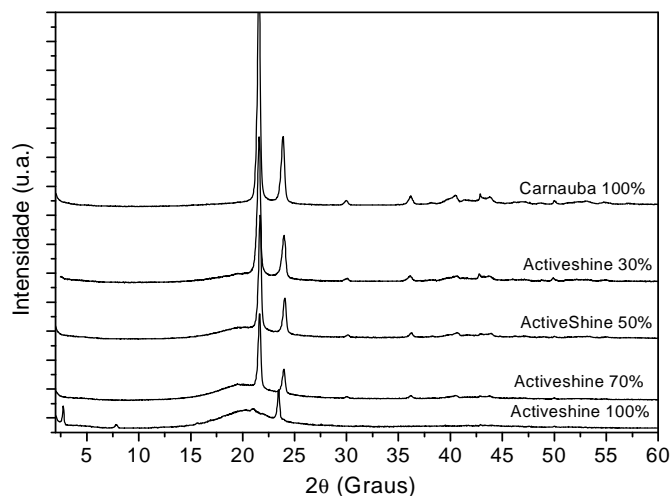


Figura 18: Difratogramas da cera de carnaúba e suas misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* nas proporções de 30, 50 e 70%.

O difratograma da cera de carnaúba apresenta duas bandas intensas de difração em $2\theta = 21.5^\circ$ e $2\theta = 23.9^\circ$, estando de acordo com a literatura que cita a presença de duas bandas de difração em $2\theta = 21.6^\circ$ e $2\theta = 23.8^\circ$ e outra banda com pouca intensidade em $2\theta = 29.9^\circ$. (Villalobos-Hernandez and Muller-Goymann, 2006)

Os difratogramas das ceras de silicone e microparafina também apresentam bandas de difração na mesma região da cera de carnaúba, sendo que a cera de silicone apresenta duas bandas intensas de difração a $2\theta = 21.6^\circ$ e $2\theta = 23.9^\circ$ e a microparafina duas bandas intensas de difração a $2\theta = 21.5^\circ$ e $2\theta = 23.9^\circ$

O difratograma do *Activeshine Amazon*, que consiste numa mistura de triglicerídeos vegetais, possui uma banda larga característica de compostos amorfos em $2\theta = 20.5^\circ$ e outra banda já característica de compostos cristalinos, de pouca intensidade, em $2\theta = 23.5^\circ$.

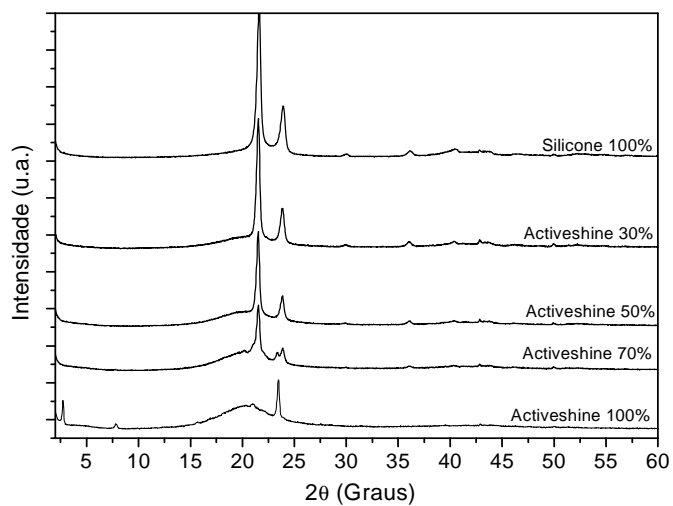


Figura 19: Difrátogramas da cera de silicone e suas misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* nas proporções de 30, 50 e 70%.

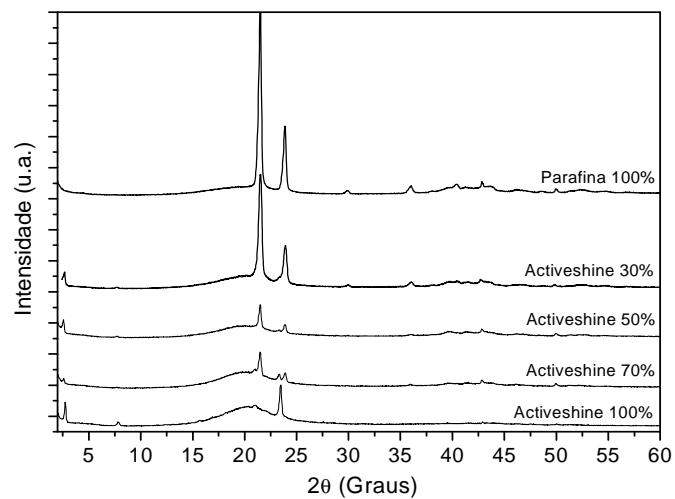


Figura 20: Difrátogramas da Parafina e suas misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* nas proporções de 30, 50 e 70%.

4.2.2. Experimentos preliminares – produção de micropartículas lipídicas sólidas por *Spray cooling*

4.2.2.1. Avaliação da influência da concentração da cera e da pressão do ar de atomização

Foram realizados experimentos exploratórios com os três tipos de ceras: carnaúba, silicone e parafina. Estes experimentos foram realizados com a finalidade de avaliar a influência dos fatores concentração das ceras e pressão do ar de atomização sobre o diâmetro das partículas, bem como a definição dos níveis para o planejamento dos experimentos. Os resultados dos testes preliminares de diâmetro de partículas, obtidos com as três ceras, estão contidos na Tabela 27 (anexo I). A avaliação do diâmetro foi efetuada por microscopia ótica, onde realizou-se a medida de aproximadamente 150 partículas, obtidas de várias imagens capturadas pelo microscópio ótico.

Os resultados obtidos estão ilustrados graficamente nas Figuras 21, 22 e 23, onde verifica-se que à medida que a pressão é aumentada, menor diâmetro de partículas são obtidas, para todas as misturas lipídicas e para os três tipos de ceras.

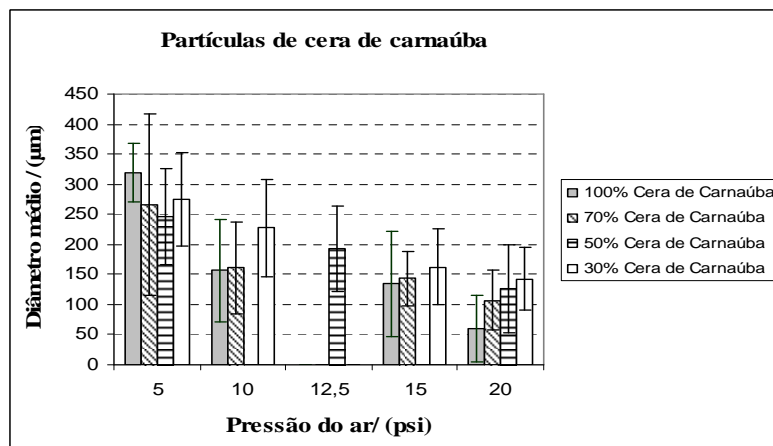


Figura 21: Diâmetro médio de partículas de cera de carnaúba e *Activeshine Amazon*, em função da pressão do ar de atomização e concentração da cera.

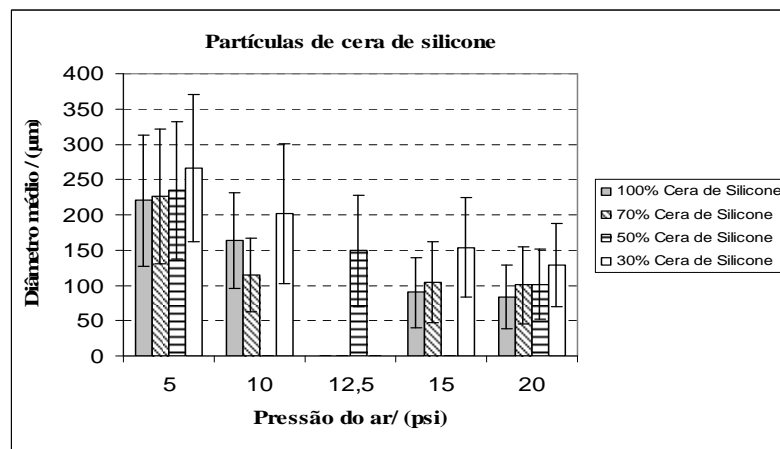


Figura 22: Diâmetro médio de partículas de cera de silicone e *Activeshine Amazon*, em função da pressão do ar de atomização e concentração da cera.

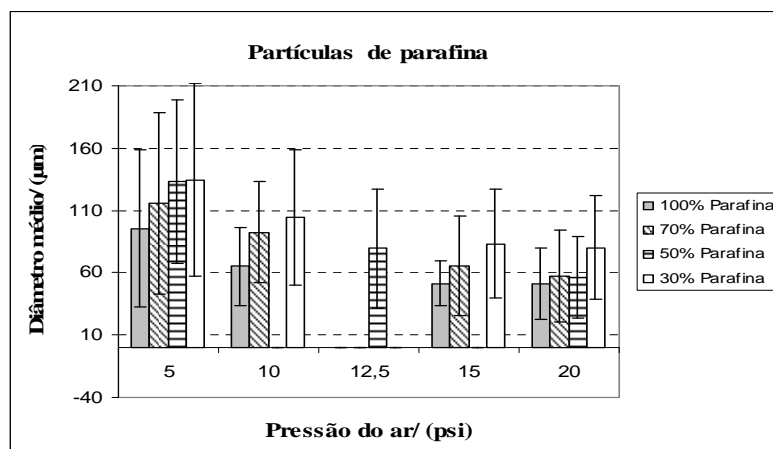


Figura 23: Diâmetro médio de partículas de parafina e *Activeshine Amazon*, em função da pressão do ar de atomização e concentração de cera.

É possível notar também uma possível influência da concentração da cera sobre o diâmetro médio das partículas. As Figuras 24, 25 e 26 mostram a variação do diâmetro médio das partículas com a concentração das ceras, considerando apenas a pressão mais elevada, ou seja 20 psi.

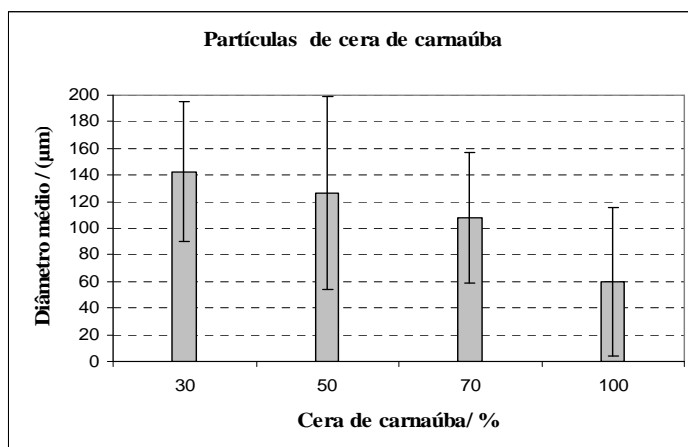


Figura 24: Diâmetro médio de partículas contendo cera de carnaúba e *Activeshine Amazon* em função da concentração da cera e pressão do ar constante em 20 psi.

Pode-se concluir pela análise das Figuras 24, 25 e 26, que há uma diminuição no diâmetro das partículas obtidas com o aumento da concentração das ceras, para os três tipos de cera. Porém a verificação de quais fatores são estatisticamente significativos, será realizado por planejamento fatorial 2x2, sendo proposto também um modelo que descreve o processo de formação de partículas, com a determinação da superfície de respostas.

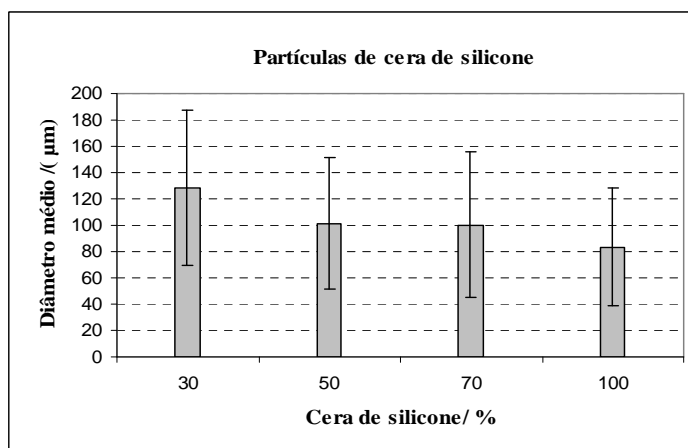


Figura 25: Diâmetro médio de partículas contendo cera de silicone e *Activeshine amazon* em função da concentração da cera e pressão do ar constante em 20 psi.

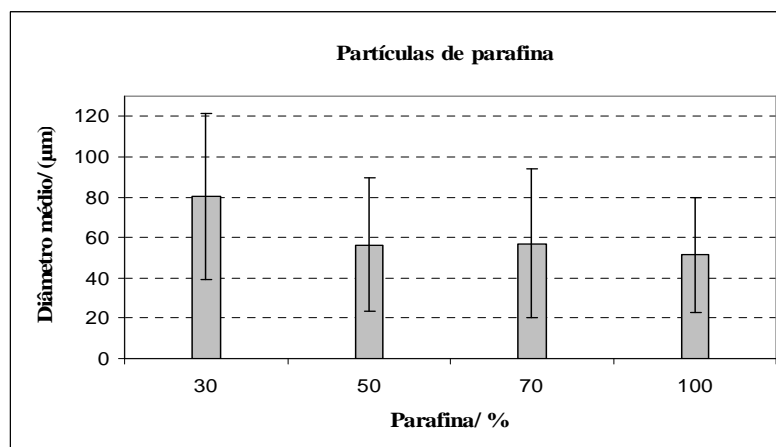


Figura 26: Diâmetro médio de partículas contendo parafina e *Activeshine Amazon* em função da concentração da parafina e pressão do ar constante em 20 psi.

4.2.2.2. Estudo da influência da pressão do ar de atomização no diâmetro das micropartículas

Foram realizados alguns ensaios exploratórios com a finalidade de avaliar o efeito da pressão do ar de atomização no diâmetro das partículas, bem como auxiliar na definição dos níveis máximo e mínimo, desta variável na realização do planejamento de experimentos. Estes ensaios foram realizados somente com a cera de carnaúba. Os resultados obtidos estão contidos na Tabela 28 (Anexo I) e ilustrados na Figura 27.

Pode-se verificar que há uma diminuição no diâmetro médio das partículas até 20 psi. A partir desta pressão e com o aumento da mesma, não verificou-se nenhuma diminuição no diâmetro das partículas.

A diminuição do diâmetro das partículas com o aumento da pressão do ar de atomização está relacionada com o fato que aumentando-se a pressão do ar, aumenta-se a velocidade de passagem do líquido pelo atomizador o que produz a formação de gotículas com menor diâmetro no bico do atomizador.

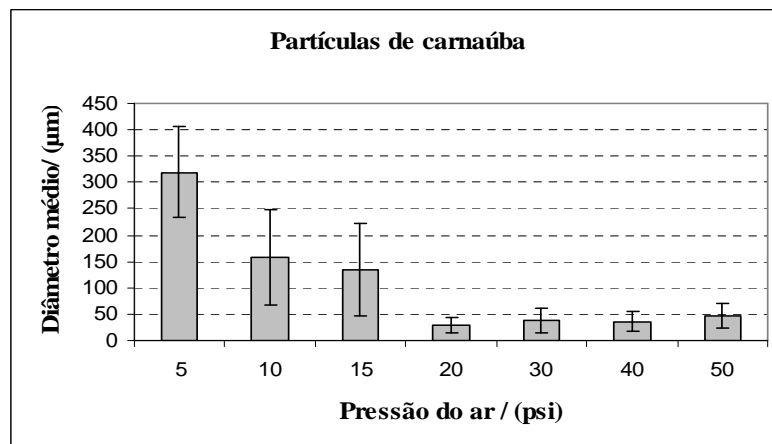


Figura 27: Diâmetro médio de partículas obtidas com 100% de cera de carnaúba em função da pressão do ar de atomização.

4.2.3. Planejamento de experimentos

4.2.3.1. Modelo linear

4.2.3.1.1. Significância estatística das variáveis no processo de preparação das partículas lipídicas

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos a partir do planejamento fatorial 2x2 com três pontos centrais, para o diâmetro médio das partículas preparadas a partir das ceras de carnaúba, silicone e parafina. Através do programa Estatística realizou-se a avaliação da significância estatística das variáveis, obtendo-se os resultados contidos na Tabela 8.

Pelos resultados verifica-se que o aumento da pressão e concentração da cera conduz a uma diminuição no diâmetro das partículas, o que é evidenciado pelo valor negativo do efeito. Porém, somente o efeito da pressão é estatisticamente significativo sendo verificado pelo valor de $p < 0,05$, na Tabela 8, e ilustrado pelos gráficos de Pareto (Figura 28, 29 e 30).

Tabela 7: Diâmetro de partículas obtido a partir das ceras de carnaúba, silicone e parafina, considerando modelo linear.

Ensaio	Pressão do ar/ (psi)	% Cera na mistura lipídica	Diâmetro médio /(μm)		
			Cera de carnaúba	Cera de silicone	Parafina
1	5	30,00	274,61 ± 77,42	131,14 ± 64,97	134,6 ± 76,97
2	20	30,00	142,78 ± 52,13	71,45 ± 22,89	80,29 ± 41,43
3	5	70,00	266,01 ± 150,17	108,91 ± 66,72	115,54 ± 73,01
4	20	70,00	107,48 ± 49,01	60,36 ± 42,22	57,04 ± 36,90
5	12,5	50,00	186,96 ± 71,15	90,28 ± 44,72	76,04 ± 47,22
6	12,5	50,00	198,21 ± 67,64	91,24 ± 56,23	81,44 ± 51,61
7	12,5	50,00	195,27 ± 72,73	74,27 ± 37,31	89,06 ± 41,09

Tabela 8: Efeitos principais e de interação obtidos a partir das partículas preparadas com as ceras de carnaúba, silicone e parafina, considerando modelo linear.

Variável	Cera de Carnaúba		Cera de Silicone		Parafina	
	Efeito	p	Efeito	p	Efeito	p
Global	195,9 ± 9,49	0,0001	89,66 ± 15,50	0,016	90,57 ± 10,64	0,0007
Pressão do ar (L)	- 145,18 ± 25,10	0,0016	- 54,12 ± 41,02	0,0297	- 56,41 ± 28,15	0,0132
Concentração da cera (L)	- 21,95 ± 25,10	0,0640	- 16,66 ± 41,02	0,2226	- 21,16 ± 28,15	0,0838
Pressão-concentração (L)	- 13,35 ± 25,10	0,1494	5,57 ± 41,02	0,6181	- 2,10 ± 28,15	0,7791

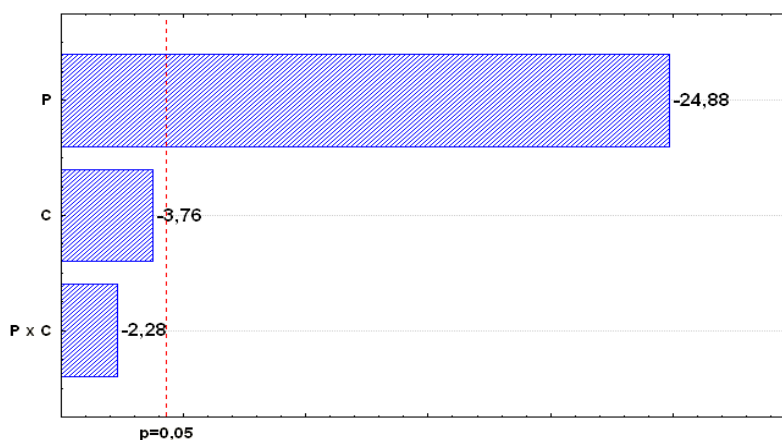


Figura 28: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação das partículas preparadas com cera de carnaúba, considerando modelo linear. Efeitos avaliados: P = Pressão, C= Concentração e P x C = Pressão x Concentração.

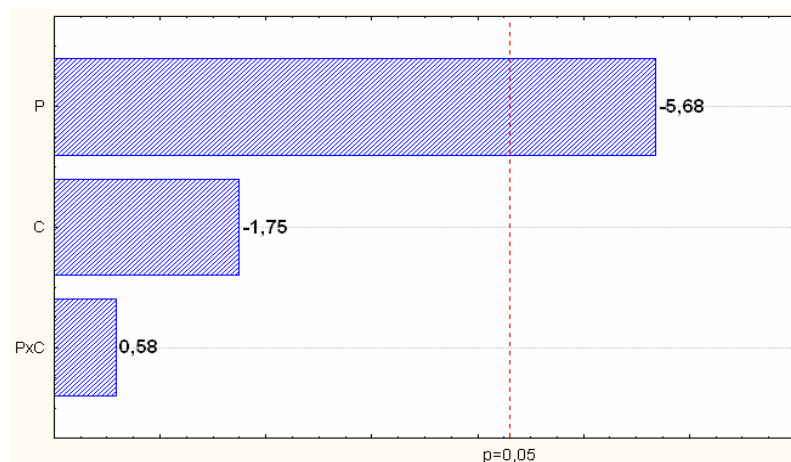


Figura 29: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação das partículas preparadas com cera de silicone, considerando modelo linear. Efeitos avaliados: P = Pressão, C= Concentração e P x C = Pressão x Concentração.

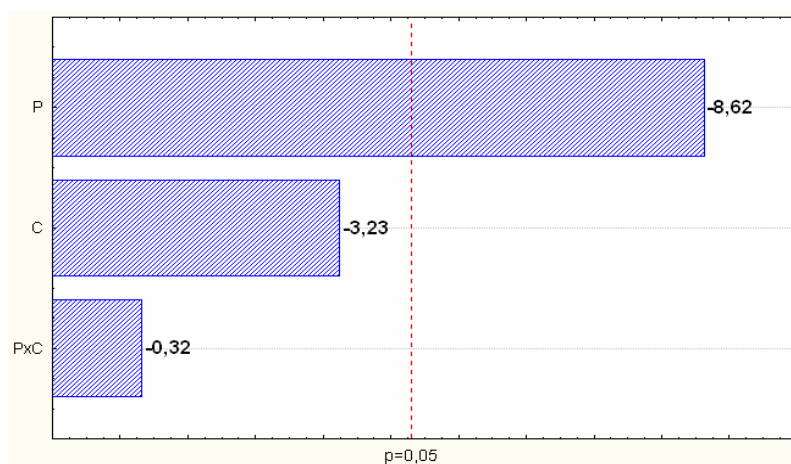


Figura 30: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação das partículas preparadas com parafina, considerando modelo linear. Efeitos avaliados: P = Pressão, C= Concentração e P x C = Pressão x Concentração.

4.2.3.1.2. Construção do modelo

Considerou-se que a diminuição do diâmetro das partículas com o aumento da pressão e da concentração da cera, pode ser descrito por um modelo linear, cujo modelo é descrita por meio da equação (6), para os três tipos de ceras.

$$y = b_0 + b_1P + b_2C + b_{12}PC, \quad (6)$$

Sendo, y a função que determina o diâmetro das partículas e, P e C , são as variáveis relacionadas a pressão de atomização e concentração de cera na mistura lipídica, respectivamente. Os parâmetros do modelo são dados por b_0 , b_1 , b_2 e b_{12} . Pode-se estimar os valores dos parâmetros, através do método dos mínimos quadrados, cujos resultados estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados da regressão do modelo linear para as partículas obtidas com os três tipos de ceras (carnaúba, silicone e parafina) e *Activeshine Amazon*.

Fator	Cera de carnaúba	Cera de silicone	Parafina
Global	195,90 \pm 9,49	89,66 \pm 15,50	90,57 \pm 10,64
Pressão do ar (L)	-72,59 \pm 12,55	-27,06 \pm 20,51	-28,20 \pm 14,07
Concentração da cera (L)	-10,98 \pm 12,55	-8,33 \pm 20,51	-10,58 \pm 14,07
Pressão x concentração (L)	-6,67 \pm 12,55	2,79 \pm 20,51	-1,05 \pm 14,07

Sendo assim, substituindo os coeficientes obtidos na Tabela 9, na equação descrita anteriormente para o modelo linear (equação 6), o modelo para cada cera, pode ser descrito pelas equações 7 (cera de carnaúba), 8 (cera de silicone) e 9 (parafina):

$$y = 195,90 (\pm 9,49) - 72,59xP (\pm 12,55) - 10,98xCC (\pm 12,55) - 6,67xPxCC (\pm 12,55) \quad (7)$$

$$y = 89,66 (\pm 15,50) - 27,06xP (\pm 20,51) - 8,33xCS (\pm 20,51) + 2,79xPxCS (\pm 20,51) \quad (8)$$

$$y = 90,57 (\pm 10,64) - 28,20xP (\pm 14,07) - 10,58xCP (\pm 14,07) - 1,05xPxCP (\pm 14,07) \quad (9)$$

onde:

y = Função que descreve o comportamento do diâmetro das partículas

P = Variável que representa a pressão do ar de atomização

CC = Variável que representa a concentração da cera de carnaúba na mistura lipídica

CS = Variável que representa a concentração da cera de silicone na mistura lipídica

CP = Variável que representa a concentração da parafina na mistura lipídica

4.2.3.1.3. Avaliação da qualidade do ajuste do modelo

4.2.3.1.3.1. Análise da variância

O método mais usado para a avaliação da qualidade do ajuste do modelo é a análise de variância, cujos resultados estão apresentados nas Tabelas 10 e 11. A partir dos valores da Tabela 10, obtém-se os parâmetros da Tabela 11.

Tabela 10: Análise da variância pelo método dos quadrados mínimos, considerando modelo linear para as partículas obtidas com cera de carnaúba, cera de silicone e parafina. SQ=Soma quadrática; MQ=Média quadrática; GL=Grau de liberdade.

	Cera de carnaúba			Cera de silicone			Parafina		
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	SQ	GL	MQ	SQ	GL	MQ
Regressão	21737,26	3	7245,75	3237,55	3	1079,18	3633,45	3	1211,15
Resíduos	98,91	3	32,97	283,42	3	94,47	455,39	3	151,80
Falta de ajuste	30,82	1	30,82	101,68	1	101,68	369,81	1	369,81
Erro puro	68,09	2	-	181,74	2	90,87	85,58	2	42,79
Total	21836,16	6		3520,98	6	-	4088,84	6	-

Tabela 11: Valores obtidos para as razões das médias quadráticas para avaliação da qualidade do modelo, comparativos aos valores tabelados de F, para as partículas obtidas com as ceras de carnaúba, silicone e parafina, considerando o modelo linear.

Parâmetro avaliado	Cera de carnaúba	Cera de silicone	Parafina
% Explicada	99,55	91,95	88,86
% Máxima explicável	99,69	94,84	97,91
MQ_R/MQ_r	219,78	11,42	7,98
MQ_{faj}/MQ_{ep}	0,91	1,12	8,64
$F_{0,95;3;3}$	9,28	9,28	9,28
$F_{0,95;1;2}$	18,51	18,52	18,51
Razão $(MQ_R/MQ_r)/(F_{0,95;3;3})$	23,68	1,23	0,86

A partir da Tabela 11, da análise de variância, pode-se verificar que o modelo linear é mais adequado para as partículas obtidas com cera de carnaúba, pois a porcentagem de variação explicada pelo modelo é bastante alta, 99,55%, sendo bem próxima da máxima variação explicável (99,69%). Além disso, a razão entre as médias quadráticas da regressão e dos resíduos (MQ_R/MQ_r) igual a 219,78, é maior do que três a quatro vezes o valor tabelado de F ($F_{0,95;3;3} = 9,28$), a 95% de confiança. A razão entre as médias quadráticas da falta de ajuste e do erro puro (MQ_{faj}/MQ_{ep}) igual a 0,91 é muito menor do que o valor de F tabelado ($F_{0,95;1;2} = 18,51$). Com

isso, podemos afirmar a boa qualidade do modelo linear obtido para a previsão do tamanho das partículas obtidas com cera de carnaúba.

Para as partículas obtidas a partir de cera de silicone, verificamos que embora a porcentagem de variação explicada pelo modelo seja alta, 91,95%, e próxima da máxima variação explicável (94,84%), verifica-se que o modelo linear não está bem ajustado aos dados experimentais, já que a razão entre as médias quadráticas da regressão e dos resíduos (MQ_R/MQ_r) igual a 11,42 não é mais de três a quatro vezes maior do que o valor tabelado de F ($F_{0,95;3;3} = 9,28$), a 95% de confiança, embora a razão entre as médias quadráticas da falta de ajuste e do erro puro (MQ_{faj}/MQ_{ep}) igual a 1,12 é menor do que o valor de F tabelado ($F_{0,95;1;2} = 18,51$). Com isso, podemos afirmar que o ajuste dos dados experimentais com o modelo linear não é muito adequado, sendo necessário ajuste para outro modelo, sendo o mais simples, o quadrático.

Para as partículas obtidas a partir da parafina, pode-se verificar também que o modelo linear não ajusta de maneira adequada os dados experimentais pois, a porcentagem de variação explicada pelo modelo é relativamente baixa (88,86%), bem abaixo da máxima variação explicável (97,91%). O valor da razão MQ_R/MQ_r , igual a 7,98, também, não apresenta-se de três a quatro vezes maior que o valor tabelado de $F_{0,95;3;3}$, igual a 9,28. A razão MQ_{faj}/MQ_{ep} , igual a 8,64, não é muito menor do que o valor de F tabelado ($F_{0,95;1;2} = 18,51$). Com isso, podemos verificar que o modelo linear não está bem ajustado aos dados experimentais, sendo necessário o ajuste para outro modelo, sendo o mais simples, o quadrático, conforme considerado para a cera de silicone.

4.2.3.1.3.2. Comparação das respostas observadas com os valores previstos pelo modelo

Outra forma de avaliar-se a qualidade do modelo é através da comparação das respostas observadas com valores previstos pelo modelo. Para as partículas obtidas com cera de carnaúba (Figura 31), os valores previstos e observados estão próximos e, além disto, os desvios entre eles estão distribuídos normalmente, ou seja observa-se desvios positivos e negativos na mesma proporção, não havendo um comportamento tendencioso, o mesmo não ocorre com as partículas obtidas a partir de cera de silicone (Figura 32) e parafina (Figura 33)

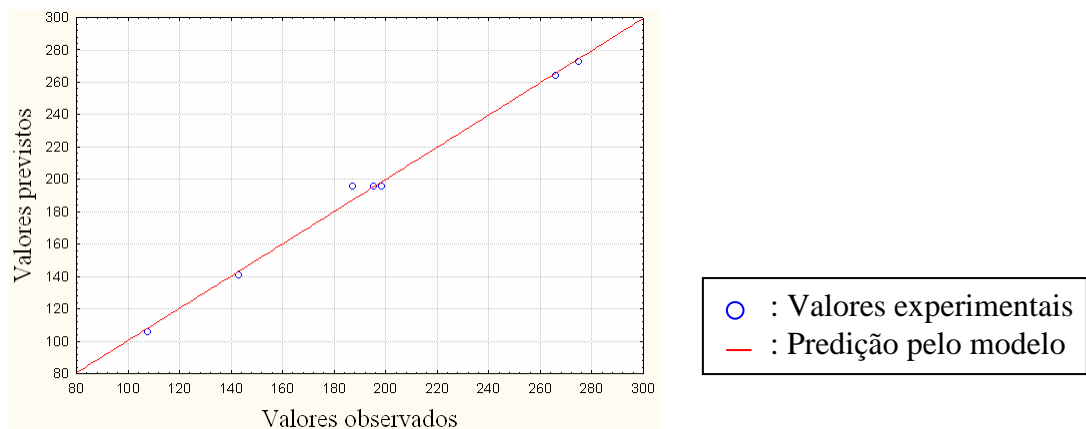


Figura 31: Comparação dos valores previstos do modelo com os valores observados, para as partículas preparadas com cera de carnaúba.

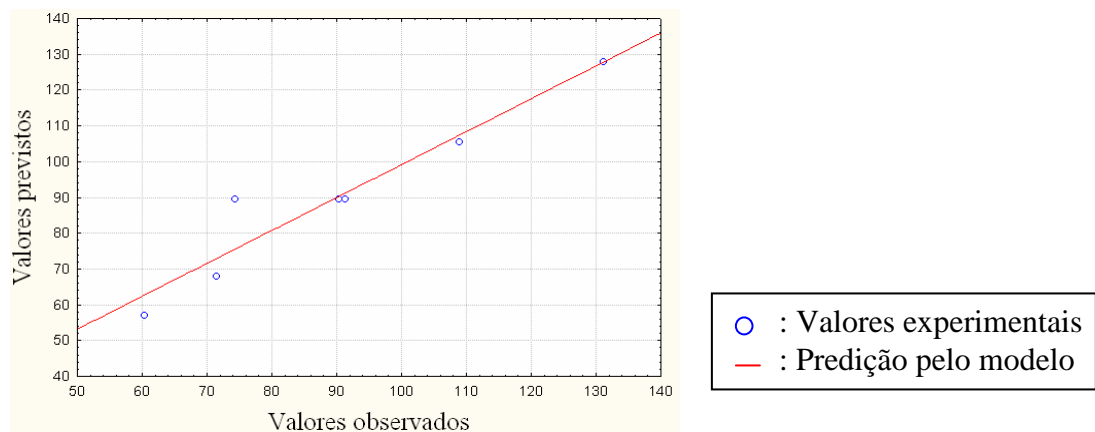


Figura 32: Comparação dos valores previstos do modelo com os valores observados, para as partículas preparadas com cera de silicone.

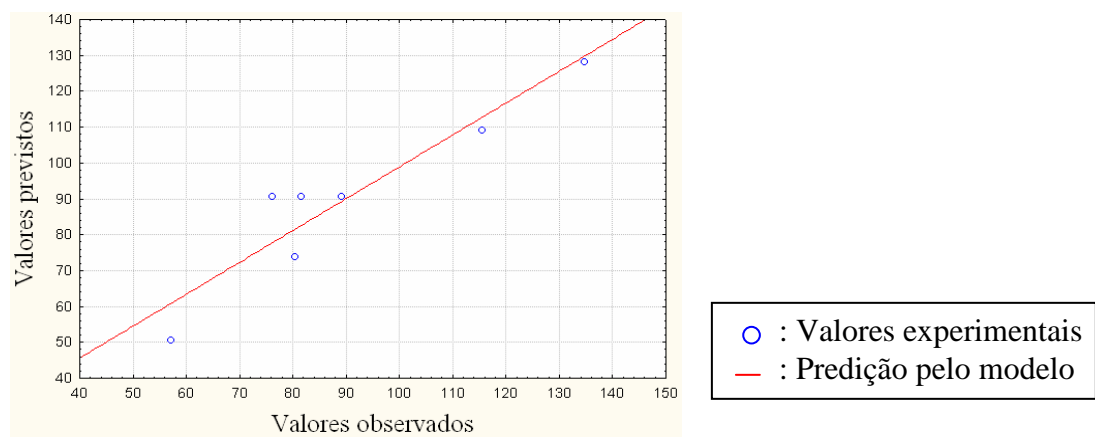


Figura 33: Comparação dos valores previstos do modelo com os valores observados, para as partículas preparadas com parafina.

4.2.3.1.4. Superfície de resposta - Modelo linear

Após verificar a boa qualidade do modelo linear adotado para as partículas obtidas com cera de carnaúba, obteve-se a superfície de resposta, conforme mostrado na Figura 34.

Por este modelo podemos verificar que a região de menor diâmetro de partículas se encontra nos maiores níveis de pressão do ar de atomização e maior concentração da cera de carnaúba na mistura lipídica.

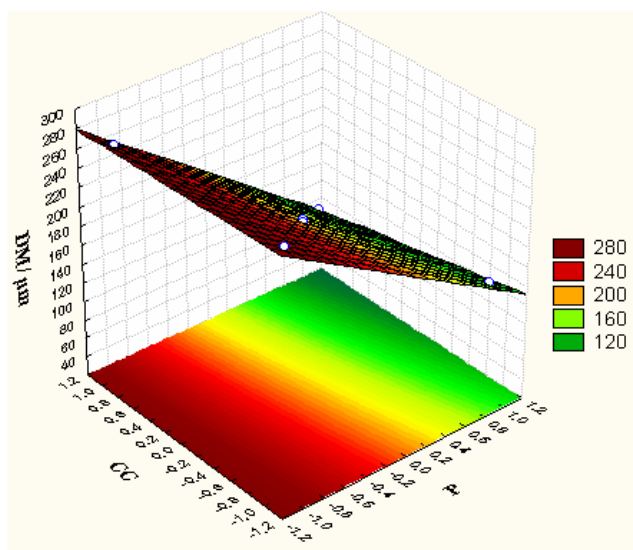


Figura 34: Superfície de resposta para o tamanho de partículas obtidas por *spray cooling* para a cera de carnaúba, em função da concentração da cera e da pressão do ar de atomização. P: Pressão do ar. CC: Concentração de cera de carnaúba. DM: Diâmetro médio de partículas.

4.2.3.2. Ajuste para Modelo Quadrático

Como modelo linear não foi adequado para ajustar os dados experimentais para as partículas obtidas a partir de cera de silicone e parafina, é necessário o ajuste para outro modelo, sendo o mais simples, o quadrático, cuja expressão geral, para duas variáveis é dado pela equação 10:

$$y = b_0 + b_1P + b_2C + b_{11}P^2 + b_{22}C^2 + b_{12}PC \quad (10)$$

Sendo, y a função que determina o diâmetro das partículas e, P e C , são as variáveis relacionadas a pressão de atomização e concentração de cera na mistura lipídica, respectivamente. Os parâmetros do modelo são dados por b_0 , b_1 , b_2 , b_{11} , b_{12} e b_{22} .

Para o ajuste à um modelo de segunda ordem, completou-se o planejamento descrito na Tabela 7, com experimentos em mais níveis (experimentos 8 a 11), destacados em cinza na Tabela 12. Esta ampliação foi feita através do planejamento estrela. Através do programa Estatística realizou-se a avaliação da significância estatística das variáveis, obtendo-se os resultados contidos na Tabela 13.

Tabela 12: Resultados do planejamento fatorial 2x2, tipo estrela, contendo os pontos axiais, para as partículas preparadas com cera de silicone e parafina.

Ensaio	Pressão do ar/ (psi)	% Cera na mistura lipídica	Diâmetro médio/ μm	
			Cera de silicone	Parafina
1	5	30,00	$131,14 \pm 64,97$	$134,6 \pm 76,97$
2	20	30,00	$71,45 \pm 22,89$	$80,29 \pm 41,43$
3	5	70,00	$108,91 \pm 66,72$	$115,54 \pm 73,01$
4	20	70,00	$60,36 \pm 42,22$	$57,04 \pm 36,90$
5	12,5	50,00	$90,28 \pm 44,72$	$76,04 \pm 47,22$
6	12,5	50,00	$91,24 \pm 56,23$	$81,44 \pm 51,61$
7	12,5	50,00	$74,27 \pm 37,31$	$89,06 \pm 41,09$
8	2	50,00	$169,11 \pm 72,28$	$207,6 \pm 99,73$
9	23	50,00	$53,92 \pm 28,25$	$53,68 \pm 26,93$
10	12,5	21,72	$96,87 \pm 45,62$	$69,74 \pm 35,30$
11	12,5	78,28	$64,99 \pm 34,32$	$54,93 \pm 28,23$

Tabela 13: Resultados dos efeitos principais e de interação para o modelo quadrático, das partículas obtidas com cera de silicone e parafina e *Activeshine Amazon*.

Variável	Cera de silicone		Parafina	
	Efeito	p	Efeito	p
Global	$85,36 \pm 23,68$	0,0041	$82,18 \pm 16,25$	0,0021
Pressão do ar (L)	$- 67,79 \pm 29,00$	0,0097	$- 82,62 \pm 19,90$	0,0031
Concentração da cera (L)	$- 19,6 \pm 29,00$	0,1007	$- 15,81 \pm 19,90$	0,0759
Pressão-concentração (L)	$5,57 \pm 41,01$	0,6181	$- 2,10 \pm 28,15$	0,7791
Pressão do ar (Q)	$24,62 \pm 34,51$	0,0918	$48,65 \pm 23,69$	0,0126
Concentração da cera (Q)	$- 5,96 \pm 34,52$	0,5348	$- 19,66 \pm 23,69$	0,0703

Pelos resultados contidos na Tabela 13, pode-se verificar novamente que para as duas ceras, o aumento na concentração da cera e pressão conduz a uma diminuição no diâmetro das

partículas. Porém, somente o efeito da pressão do ar é estatisticamente significativo, sendo verificado pelo valor de $p < 0,05$ e ilustrado pelos gráficos de Pareto, nas Figura 35 e 36.

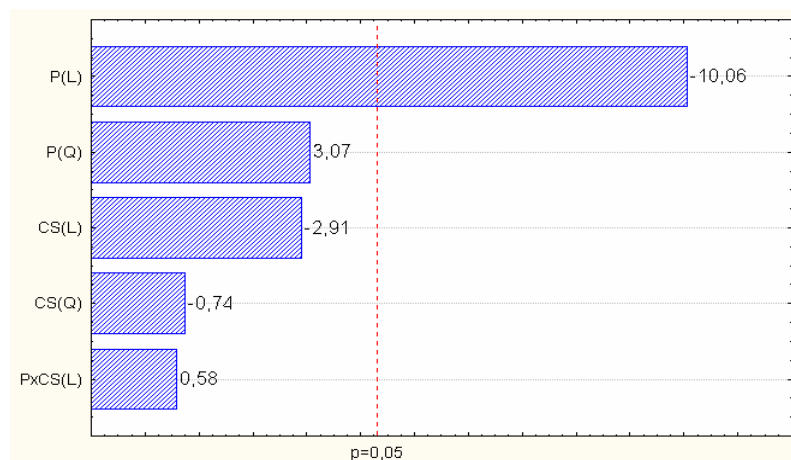


Figura 35: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação para o modelo quadrático estimado para as partículas preparadas com cera de silicone. Efeitos avaliados: P(L)= pressão linear, P(Q)=Pressão quadrática, CS(L)=Concentração de Silicone Linear, CS(Q)=Concentração Silicone Quadrático, P x CS (L) = Pressão x Concentração de Silicone Linear.

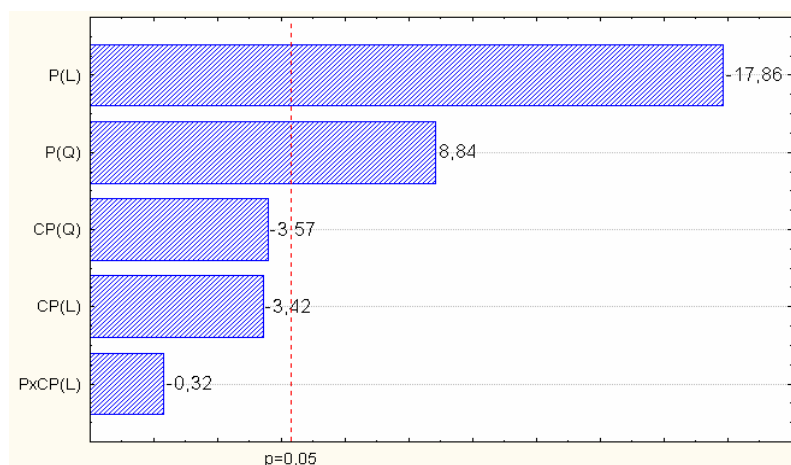


Figura 36: Gráfico de Pareto para os efeitos principais e de interação para o modelo quadrático estimado para as partículas preparadas com parafina. Efeitos avaliados: P(L)= pressão linear, P(Q)=Pressão quadrática, CP(L)=Concentração Parafina Linear, CP(Q)=Concentração Parafina Quadrático, P x CP (L) = Pressão x Concentração Parafina Linear.

A estimativa dos valores dos parâmetros da equação 10, foi realizada através do método dos mínimos quadrados, cujos resultados estão descrito na Tabela 14.

Tabela 14: Resultados da regressão do modelo quadrático para as partículas obtidas com as ceras de silicone e parafina.

Fator	Coeficiente da regressão	
	Cera de silicone	Parafina
Global	85,26 ± 23,68	82,18 ± 16,25
Pressão do ar (L)	-33,89 ± 14,50	-41,31 ± 9,95
Concentração da cera (L)	-9,80 ± 14,50	-7,91 ± 9,95
Pressão x concentração (L)	2,78 ± 20,51	-1,05 ± 14,07
Pressão do ar (Q)	12,31 ± 17,26	24,33 ± 11,84
Concentração da cera (Q)	-2,98 ± 17,26	-9,83 ± 11,84

Sendo assim, substituindo os coeficientes obtidos na Tabela 14, na equação descrita anteriormente para o modelo quadrático (equação 10), o modelo para cada cera, pode ser descrito pelas equações 11 (cera de silicone) e 12 (parafina):

$$y = 85,26 (\pm 23,68) - 33,89xP (\pm 14,50) - 9,80xCS (\pm 14,50) + 12,31xP^2 (\pm 17,26) - 2,98xCS^2 (\pm 17,26) + 2,78xPxCS (\pm 20,51) \quad (11)$$

$$y = 82,18 (\pm 16,25) - 41,31xP (\pm 9,95) - 7,91xCP (\pm 9,95) + 24,33xP^2 (\pm 11,84) - 9,83xCP^2 (\pm 11,84) - 1,05xPxCP (\pm 14,07) \quad (12)$$

onde:

y = Função que descreve o comportamento do diâmetro das partículas

P = Variável que representa a pressão do ar de atomização

CS = Variável que representa a concentração da cera de silicone na mistura lipídica

CP = Variável que representa a concentração da parafina na mistura lipídica

4.2.3.2.1. Avaliação da qualidade do ajuste do Modelo

4.2.3.2.1.1. Análise da variância

Os resultados da análise da variância, da qualidade do ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático para as partículas obtidas a partir da cera de silicone e parafina, estão apresentados nas Tabelas 15 e 16. A partir dos valores da Tabela 15, obteve-se os parâmetros contidos na Tabela 16.

Tabela 15: Análise da variância pelo método dos quadrados mínimos, considerando modelo quadrático para as partículas obtidas com cera de silicone e parafina. SQ=Soma quadrática; MQ=Média quadrática; GL=Grau de liberdade.

	Cera de silicone			Parafina		
Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	SQ	GL	MQ
Regressão	11114,66	5	2222,93	19281,28	5	3856,26
Resíduos	593,77	5	118,75	1517,53	5	303,51
Falta de ajuste	412,03	3	137,35	1431,95	3	477,32
Erro puro	181,74	2	90,87	85,58	2	42,79
Total	11706,44	10	-	20798,81	10	-

Tabela 16: Valores obtidos para as razões das médias quadráticas para avaliação da qualidade do modelo, comparativos aos valores tabelados de F, para as partículas obtidas com as ceras de silicone e parafina, considerando o modelo quadrático.

Parâmetro avaliado	Cera de silicone	Parafina
% Explicada	94,93	92,70
% Máxima explicável	98,45	99,59
MQ_R/MQ_r	18,72	12,71
MQ_{faj}/MQ_{ep}	1,51	11,15
$F_{0,95;5;5}$	5,05	5,05
$F_{0,95;3;2}$	19,16	19,16
Razão $(MQ_R/MQ_r)/(F_{0,95;5;5})$	3,71	2,52

A partir da Tabela 16, observa-se que o modelo quadrático se ajusta melhor aos dados experimentais que o modelo linear, tanto para as partículas obtidas a partir da cera de silicone quanto para a parafina. Para as partículas de silicone, a porcentagem da variação explicada está em 94,93%. e a máxima variação explicável é de 98,45%. A razão MQ_R/MQ_r (18,72) é maior do que o valor tabelado de $F_{0,95;5;5}$ (5,05), sendo o valor próximo a 4 à 95% de confiança, e a razão MQ_{faj}/MQ_{ep} (1,51) apresenta-se bem menor do que o valor de $F_{0,95;3;2}$ (19,16).

Para as partículas de parafina, a porcentagem da variação explicada está em 92,70%, sendo que a máxima variação explicável é de 99,59%. A razão MQ_R/MQ_r (12,71) é maior do que o valor tabelado de $F_{0,95;5;5}$ (5,05), sendo o valor próximo a 3, à 95% de confiança, e a razão MQ_{faj}/MQ_{ep} (11,15) apresenta-se menor do que o valor de $F_{0,95;3;2}$ (19,16).

4.2.3.2.1.2. Comparação das respostas observadas com os valores previstos pelo modelo

A avaliação da qualidade do modelo através da comparação das respostas observadas com valores previstos pelo modelo, estão ilustradas nas Figuras 37 e 38. Pode-se concluir que tanto para as partículas obtidas com cera de silicone (Figura 37) quanto para as partículas de parafina (Figura 38), que a qualidade do modelo é razoável, pois as respostas observadas estão com valores próximos aos valores previstos pelo modelo, e além disto, os desvios entre eles estão distribuídos normalmente, ou seja observa-se desvios positivos e negativos na mesma proporção, não havendo um comportamento tendencioso, conforme ilustrados no gráficos das Figuras 37 e 38.

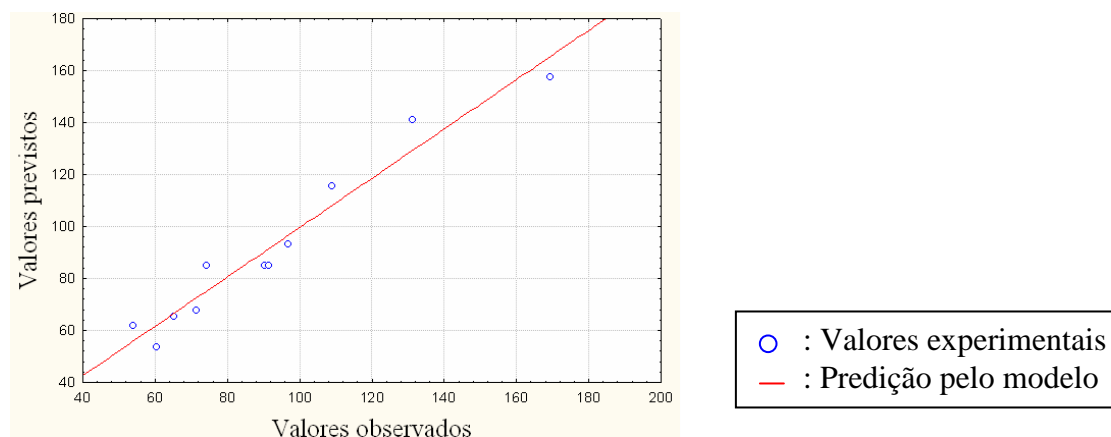


Figura 37: Comparação das previsões do modelo quadrático com os valores observados, para as partículas preparadas com cera de silicone.

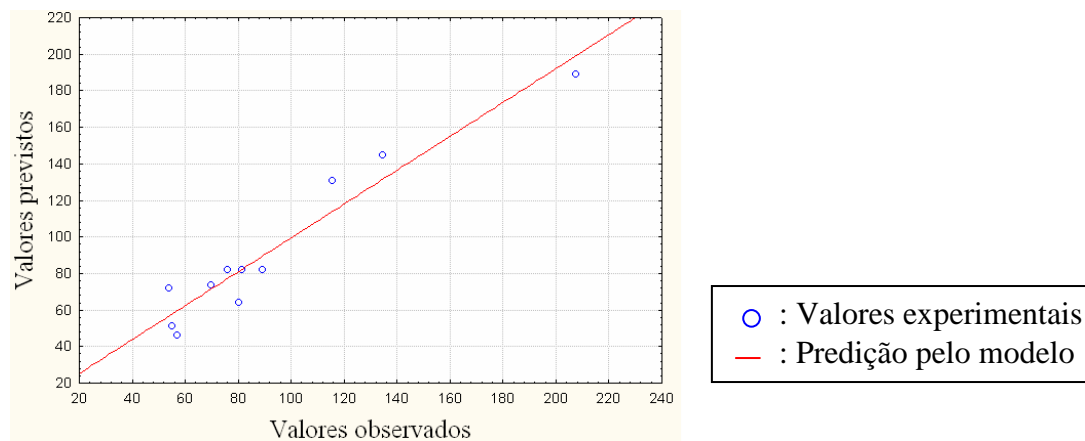


Figura 38: Comparação das previsões do modelo quadrático com os valores observados, para as partículas preparadas com parafina.

4.2.3.2.2. Superfície de resposta - Modelo quadrático

4.2.3.2.2.1. Cera de silicone

Após verificar a razoável qualidade do modelo quadrático adotado para as partículas obtidas com cera de silicone, obteve-se a sua respectiva superfície de resposta, conforme mostrado na Figura 39.

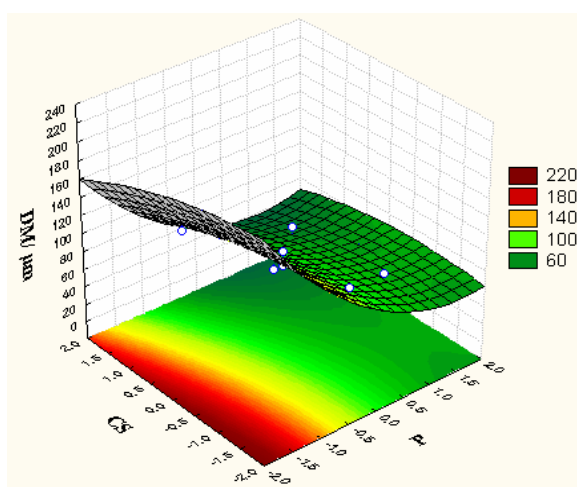


Figura 39: Superfície de resposta para o diâmetro de partículas obtida com cera de silicone, em função da concentração da cera e da pressão do ar. P: Pressão do ar. CS: Concentração de cera de silicone. DM: Diâmetro médio de partículas.

Por este modelo podemos verificar que há uma tendência da região de menor diâmetro de partículas estar localizada nos maiores níveis de pressão do ar de atomização e maior concentração da cera de silicone na mistura lipídica, o que pode ser melhor descrito pelas curvas de níveis da superfície de resposta, apresentado pela Figura 40.

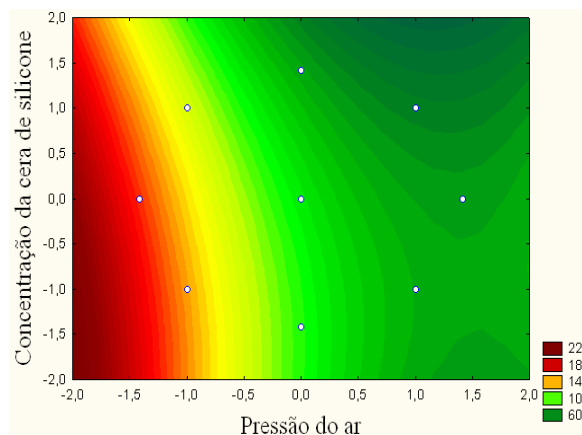


Figura 40: Curvas de níveis para o diâmetro de partículas obtidas com cera de silicone, em função da concentração da cera e da pressão do ar.

4.2.3.2.2. Parafina

Após verificar a razoável qualidade do modelo quadrático adotado para as partículas obtidas com parafina, obteve-se a sua respectiva superfície de resposta, conforme mostrado nas Figura 41.

Por este modelo, podemos verificar que a região de menor diâmetro de partículas situa-se nos maiores níveis de pressão do ar de atomização e nas regiões intermediárias para altas e baixas concentração da parafina na mistura lipídica, o que pode ser melhor descrito pela curvas de níveis da superfície de resposta, apresentado pela Figura 42.

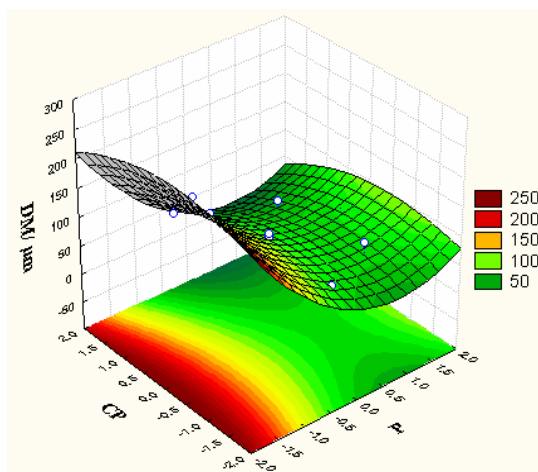


Figura 41: Superfície de resposta para o diâmetro de partículas obtidas com parafina, em função da concentração da cera e da pressão do ar. P: Pressão do ar. CP: Concentração de parafina. DM: Diâmetro médio de partículas.

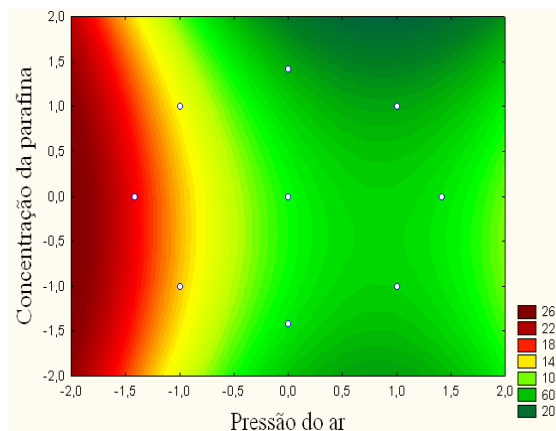


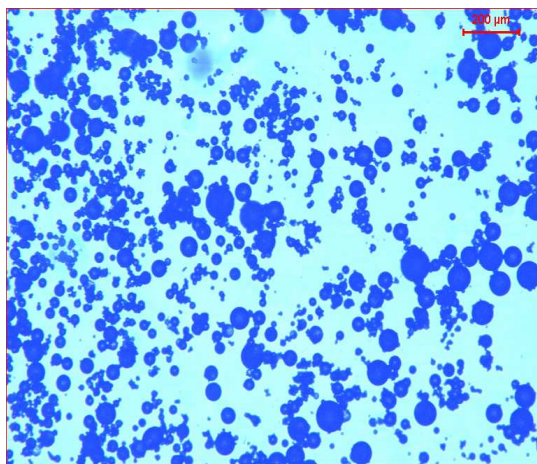
Figura 42: Curvas de níveis para o diâmetro de partículas de parafina, em função da concentração da cera e da pressão do ar.

4.2.4. Caracterização das partículas

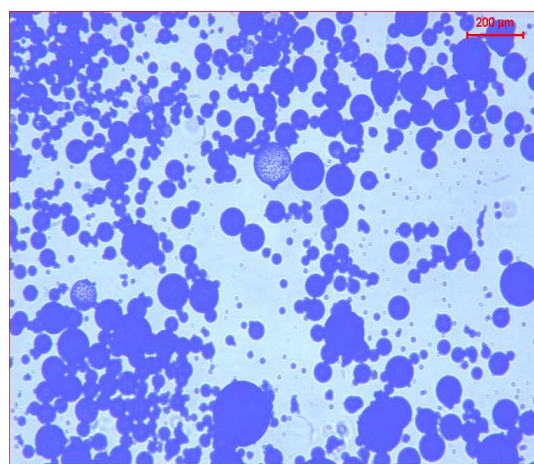
4.2.4.1. Microscopia ótica

Pode-se verificar por microscopia ótica, que as partículas obtidas com os três tipos de ceras apresentaram morfologia esférica. As Figuras 43 a 45, ilustram a morfologia das partículas obtidas via processo de *spray cooling*, nas concentrações entre 30 a 100% de cera na mistura lipídica com *Activeshine amazon*.

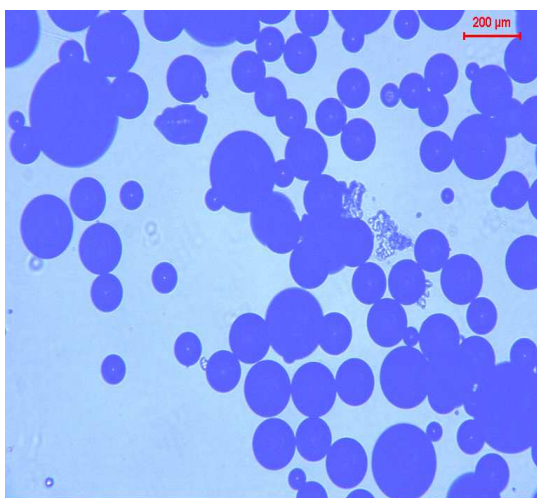
Verificou-se também, principalmente pelo aspecto do pó obtido, que a medida que a concentração da cera aumentava na admistura lipídica, uma menor agregação entre as partículas foi observada, sendo mais evidente para as partículas obtidas com cera de carnaúba. Isto deve-se provavelmente ao fato que o *Activeshine Amazon*, sendo um triglicerídeo com cristalização mais lenta que as ceras, faz com que o mesmo situe-se na superfície das partículas, o que provoca uma maior agregação. Isto pode ser explicado pelo fato do *Activeshine Amazon* apresentar um baixo ponto de fusão (Ponto de fusão = 23 °C e Cristalização = 5 °C), comprovado pelas curvas de DSC (Figuras 15, 16 e 17). Os Difrátogramas de raios-X (Figuras 18, 19 e 20) demonstraram também que mesmo com 70% de cera nas misturas lipídicas, não houve a incorporação total do *Activeshine Amazon* na matriz lipídica.



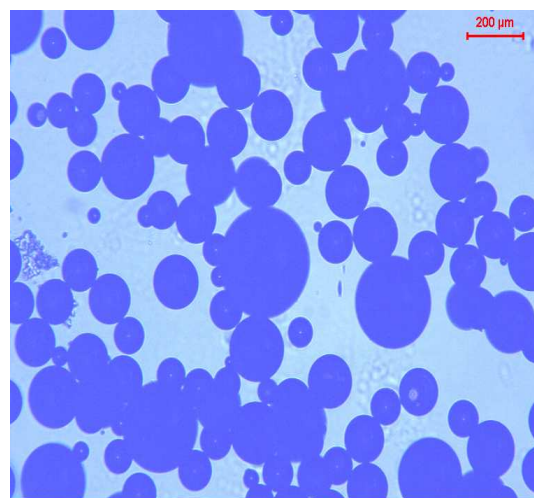
(a)



(b)

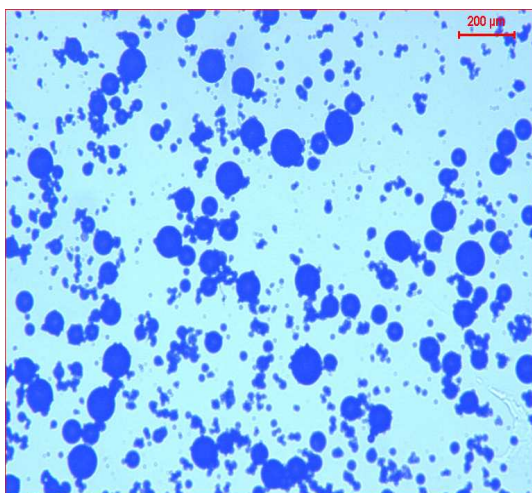


(c)

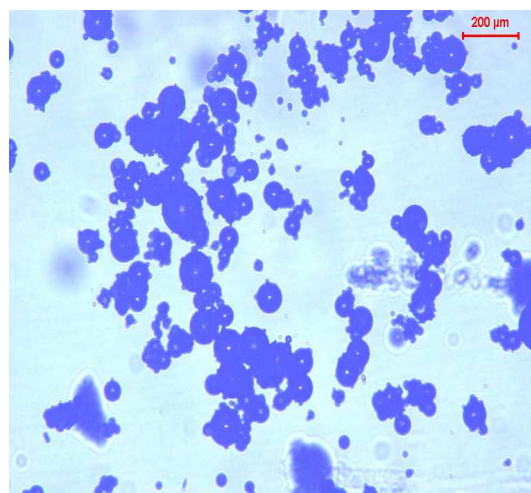


(d)

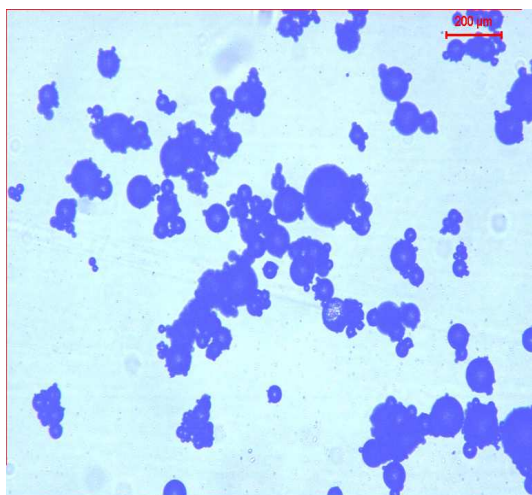
Figura 43: Microscopia ótica das partículas obtidas com cera de carnaúba a 20 psi: (a) 100% , (b) 70% , (c) 50%, (d) 30%.



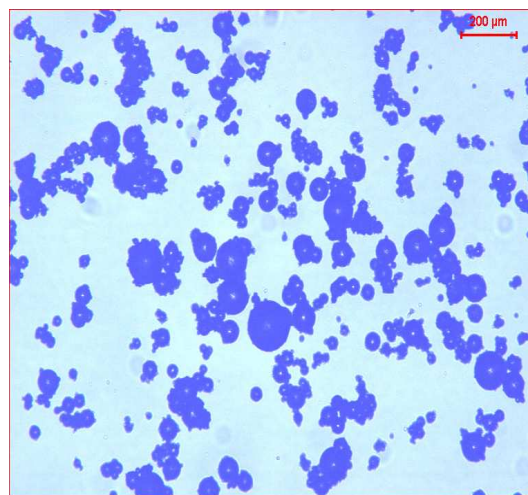
(a)



(b)

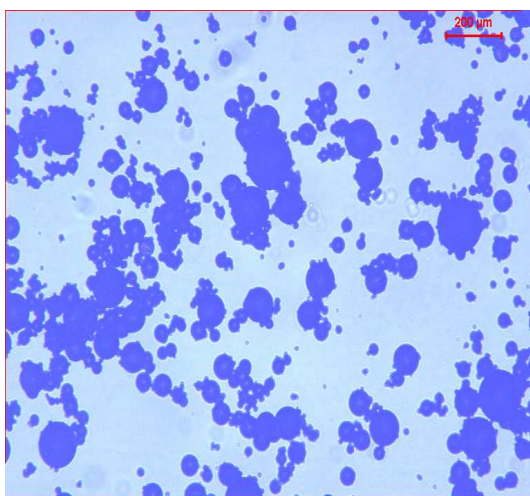


(c)

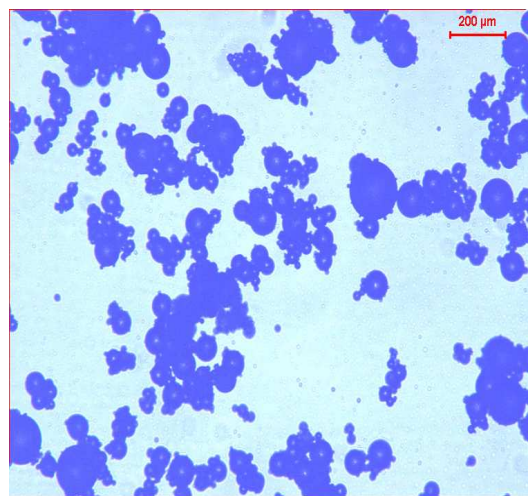


(d)

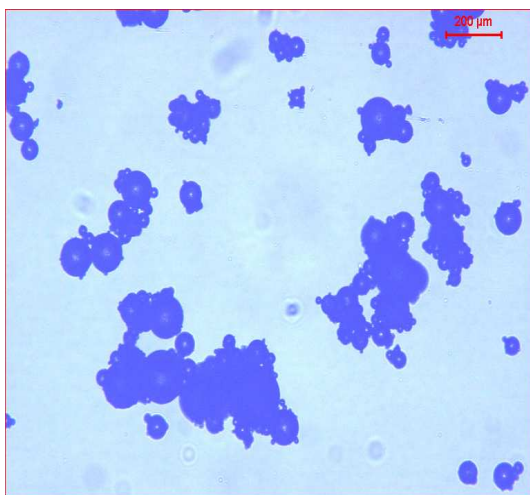
Figura 44: Microscopia ótica das partículas obtidas com cera de silicone a 20 psi: (a) 100%, (b) 70%, (c) 50% e (d) 30%.



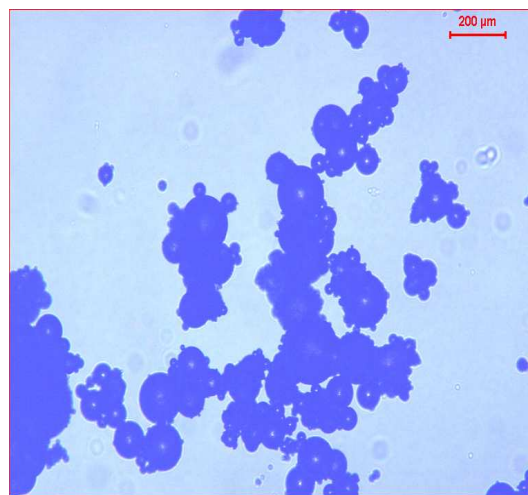
(a)



(b)



(c)

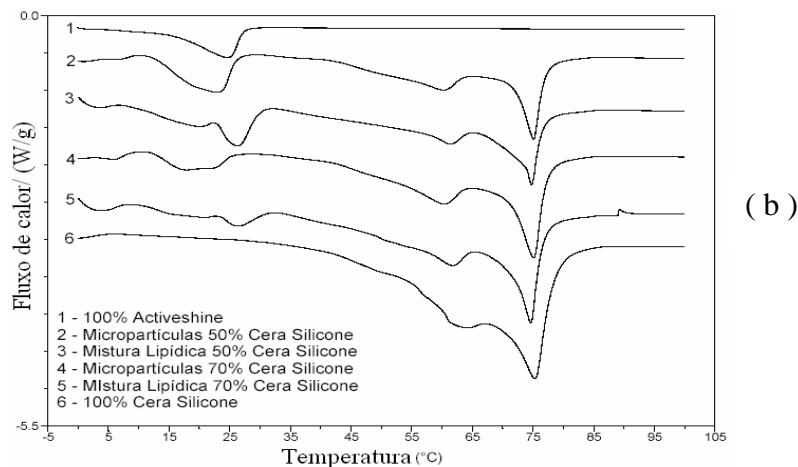
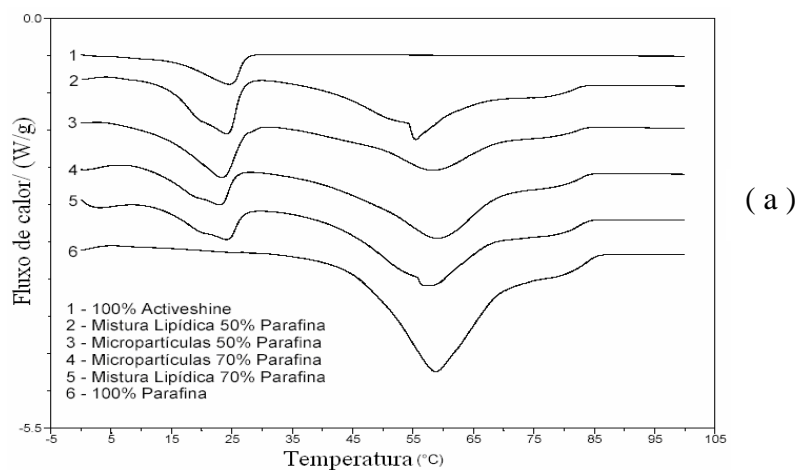


(d)

Figura 45: Microscopia ótica das partículas obtidas com parafina a 20 psi: (a) 100%, (b) 70% , (c) 50% e (d) 30%.

4.2.4.2. Comportamento térmico na fusão (DSC)

A Figura 46 apresenta os termogramas das micropartículas obtidas a partir das misturas lipídicas das ceras de carnaúba, silicone e parafina com *Activeshine Amazon*. Pode-se observar que os termogramas das micropartículas estão bastante similares aos termogramas das misturas lipídicas, observando-se um ligeiro deslocamento na temperatura de fusão do *Activeshine* com as partículas obtidas com parafina, enquanto que este deslocamento é mais evidente nas partículas obtidas com a cera de silicone, indicando uma maior interação do *Activeshine Amazon* com a cera de silicone. Para as partículas obtidas com cera de carnaúba, a admistura com 50% de cera apresentou uma menor contribuição do pico devido ao *Activeshine* (Figura 46c, curvas 2 e 3), enquanto que para as partículas obtidas com 70% de carnaúba, observa-se uma ligeira diminuição do pico referente ao pico do *Activeshine Amazon* (Figura 46c, curvas 4 e 5).



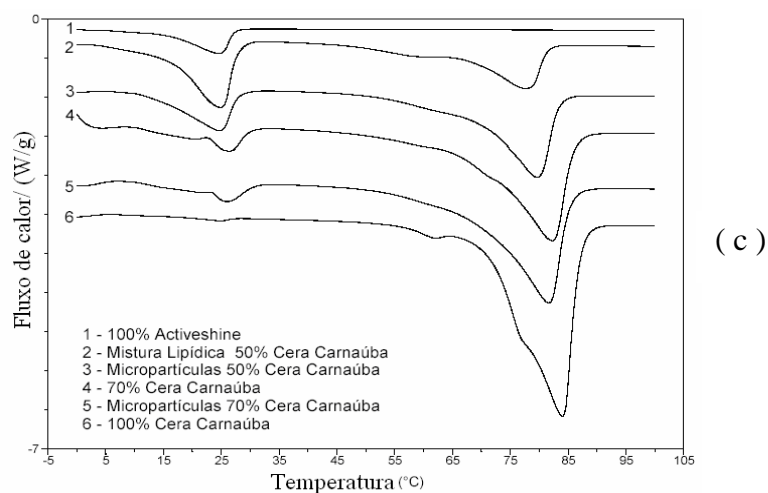
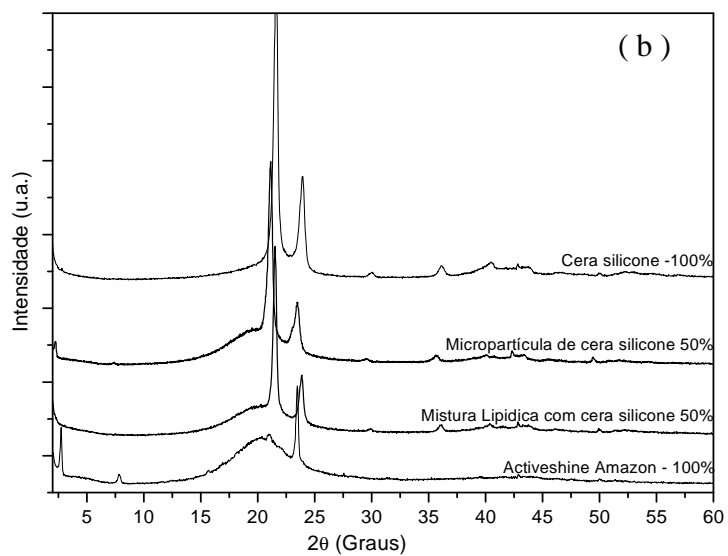
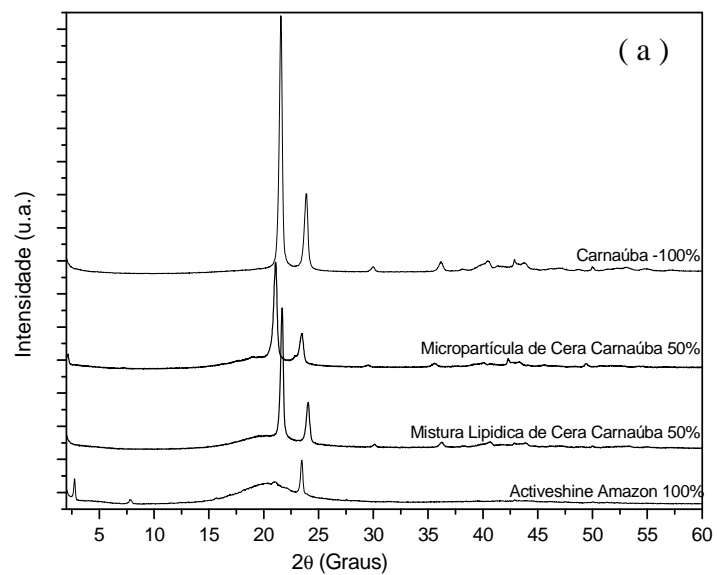


Figura 46: Termogramas (DSC) das micropartículas de parafina (a), cera de silicone (b) e cera de carnaúba (c) com *Activeshine Amazon*, a 50% e 70%.

4.2.4.3. Difração de Raios-X

As Figuras 47 e 48 apresentam os difratogramas das micropartículas obtidas a partir das misturas lipídicas das ceras de carnaúba, silicone e parafina com *Activeshine Amazon* a 50 e 70%, respectivamente. Pode-se observar que os difratogramas das micropartículas estão bastante similares aos termogramas das misturas lipídicas, não indicando nenhuma diferenciação significativa na estrutura lipídica das micropartículas após o processo de atomização e cristalização. Cálculos relacionados aos tamanhos dos cristalitos que compõe as misturas lipídicas e as partículas, a partir dos difratogramas, poderiam indicar possíveis diferenças que não foram perceptíveis nos difratogramas.



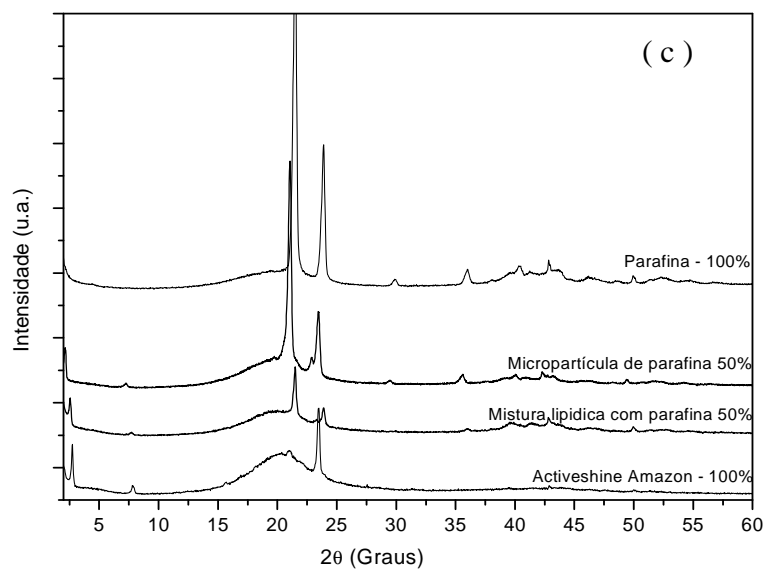
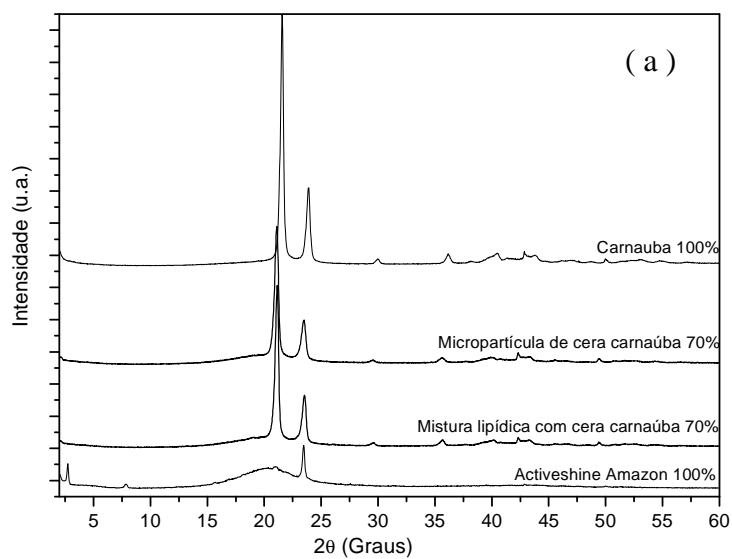


Figura 47: Difrátogramas (WAXS) das micropartículas de cera de carnaúba (a), cera de silicone (b) e parafina (c), com *Activeshine Amazon*, na proporção de 50%.



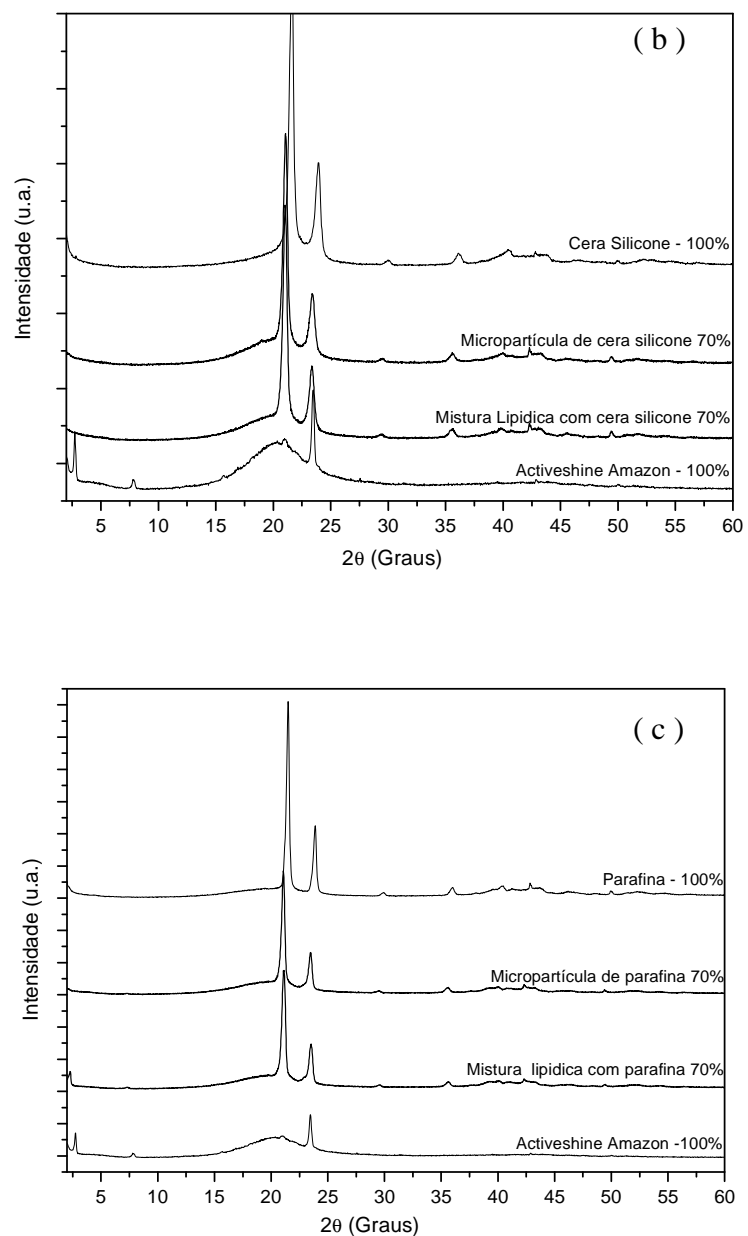


Figura 48: Difrátogramas (WAXS) das micropartículas de cera de carnaúba (a), cera de silicone (b) e parafina (c) com *Activeshine Amazon*, na proporção de 70%.

4.2.4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As Figuras 49, 50 e 51, apresentam as microscopias eletrônicas de varredura das micropartículas lipídicas sólidas obtidas a partir das ceras de carnaúba, silicone e parafina pura e

das misturas lipídicas com *Activeshine Amazon* a 30%. Pode-se observar que as partículas apresentam morfologia esférica para as partículas obtidas a partir dos três tipos de ceras.

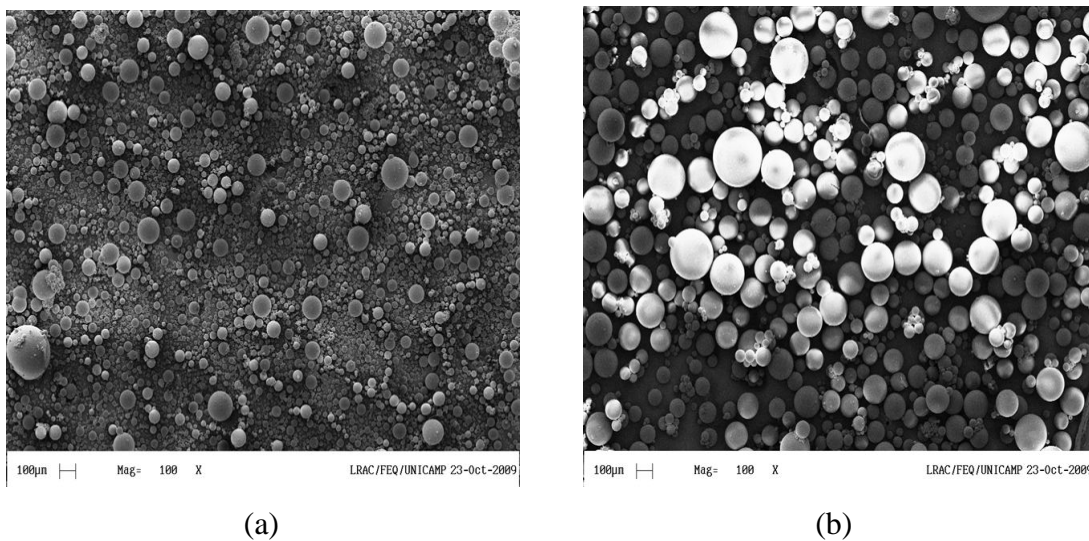


Figura 49: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas lipídicas sólidas. (a) 100% cera de carnaúba, (b) 70% cera de carnaúba.

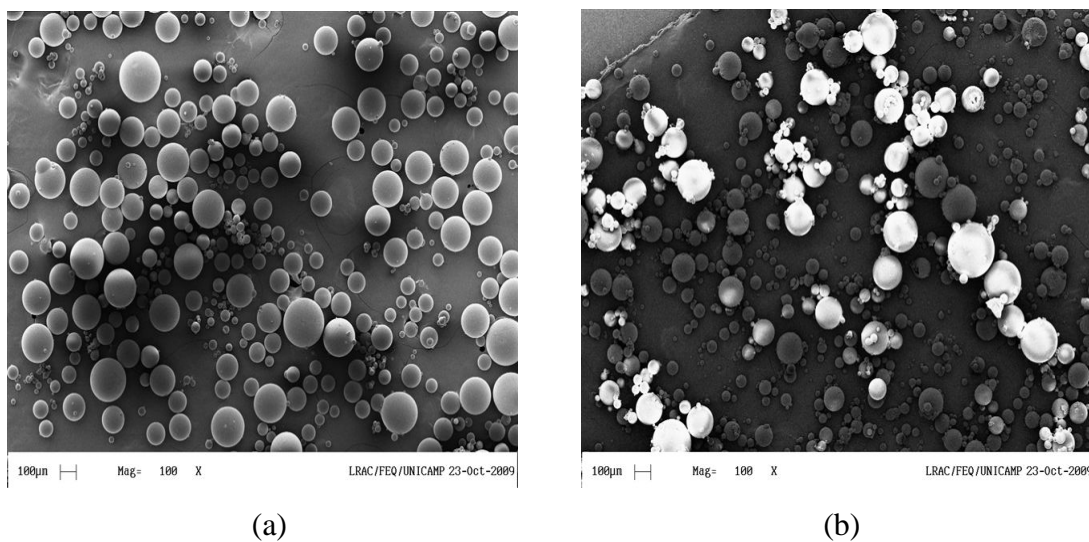
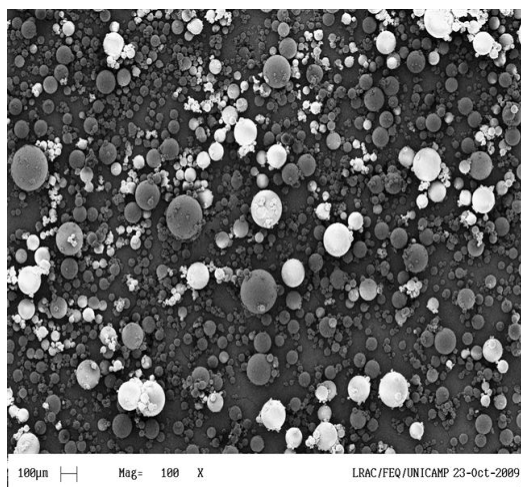
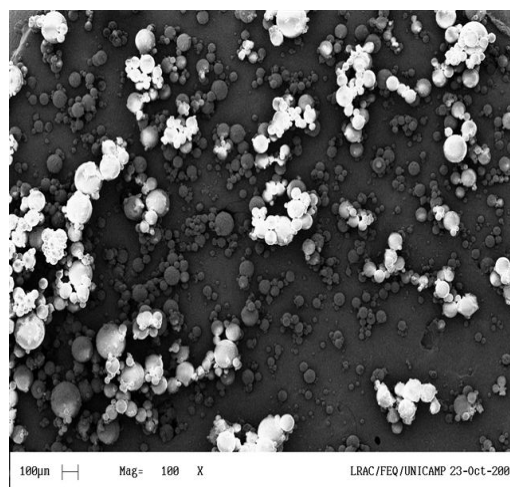


Figura 50: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas lipídicas sólidas. (a) 100% cera de silicone, (b) 70% cera de silicone.



(a)



(b)

Figura 51: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas lipídicas sólidas. (a) 100% parafina, (b) 70% parafina.

5. PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS VIA INVERSÃO DE FASE

Este capítulo tem a finalidade de apresentar os materiais e métodos utilizados na preparação e caracterização das nanopartículas lipídicas sólidas obtidas via inversão de fase por temperatura (PIT).

5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.1. Materiais

Em função da cera de carnaúba ser de origem vegetal, típica da região nordeste do Brasil, e ter apresentado menor agregação das partículas, nos testes de *spray cooling*, optou-se em realizar a preparação das nanopartículas por inversão de fase por temperatura apenas com esta cera. Embora tenha sido verificado pelas análises de DSC e difração de raios-X, que o *Activeshine Amazon* seja incorporado na mistura lipídica com concentração de cera superior a 70%, para completa incorporação do mesmo, optou-se em utilizar a mistura lipídica 1:1 (cera de carnaúba: *Activeshine Amazon*), pelo fato desta mistura apresentar uma elevada concentração de *Activeshine Amazon*, que é o ativo de interesse a ser encapsulado, e também com esta mistura ser possível a obtenção de partículas lipídicas sólidas com ponto de fusão superior a 40 °C. Para a preparação das partículas, via nanoemulsão, além destes dois componentes foram incorporados outros componentes, tais como: conservantes, aditivos para promoção de brilho e umectação, quaternários de amônio para mudança de carga superficial e tensoativos etoxilados e não-etoxilados.

5.1.1.1. Tensoativos

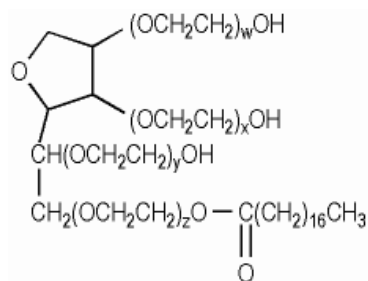
5.1.1.1.1. Óleo de mamona PEG-40

O óleo de mamona PEG-40 foi fornecido pela empresa Chemyunion Química Ltda (Sorocaba, SP), sendo fabricado e comercializado pela BASF (Alemanha), com o nome

Cremophor RH-40. Consiste em um tensoativo não-iônico, etoxilado, obtido pela reação entre 40 moles de óxido de etileno com 1 mol de óleo de mamona hidrogenado. Os principais constituintes são o glicerol polietileno glicol oxiestearato, ésteres de ácidos graxos glicerol poliglicóis, polietileno glicóis e glicerol etoxilado. Possui um valor de HLB situado entre 14 a 16, e ponto de névoa 93 °C. (Na et al, 1999; Basf, 2007; Ren et al, 2008).

5.1.1.1.2. Polisorbato 60

O polisorbato 60 foi fornecido pela empresa Chemyunion Química Ltda (Sorocaba, SP), sendo fabricado e comercializado pela SEPPIC (Lion, França), com o nome Montanox 60. Consiste em um tensoativo etoxilado, composto por uma mistura de ésteres de estearato de sorbitol e sorbitol anidro, predominando o monoéster, condensado com aproximadamente 20 moles de óxido de etileno. Possui valor de HLB igual a 14,9, ponto de névoa maior que 100 °C e fórmula geral apresentada na Figura 52 (ICI, 1980; Ash, 2004; Lambent Technologies, 2011; SEPPIC, 2011a):



onde: $w + x + y + z = 20$.

Figura 52: Estrutura química do polisorbato 60 (Fonte: SEPPIC, 2011a).

5.1.1.1.3. Caprilil/capril glicosídeo

O caprilil/ capril glicosídeo foi fornecido pela Chemyunion (Sorocaba, SP), sendo fabricado e comercializado pela SEPPIC (Lion, França) com o nome Oramix CG 110. Consiste em um tensoativo não-etoxilado, obtido a partir de álcoois graxos e glicose, contendo 60% de ativo, com valor de HLB igual a 13,6 e não apresenta ponto de névoa. A sua estrutura é definida pela Figura 53 (Ash, 2004; SEPPIC, 2011b).

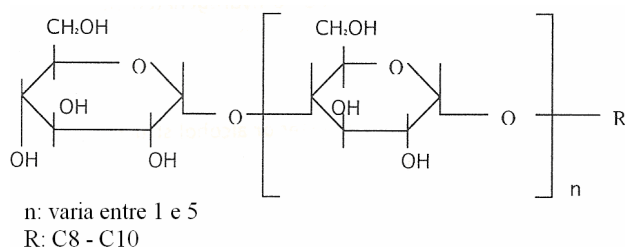


Figura 53: Estrutura química do caprilil/capril glicosídeo (Fonte: Seppic, 2011b).

5.1.1.1.4. Decil glicosídeo

O decil glicosídeo foi fornecido pela empresa Chemyunion Química Ltda (Sorocaba, SP), sendo fabricado e comercializado pela SEPPIC (Lion, França), com o nome Oramix NS10. Consiste em um tensoativo não-etoxilado, composto por um alquil glicosídeo a 55% de ativos. Possui valor de HLB igual a 13,5 e não apresenta valor de ponto de névoa. A estrutura geral é definida pela Figura 54 (Sjoblom, 1996; Ash, 2004; SEPPIC, 2011c):

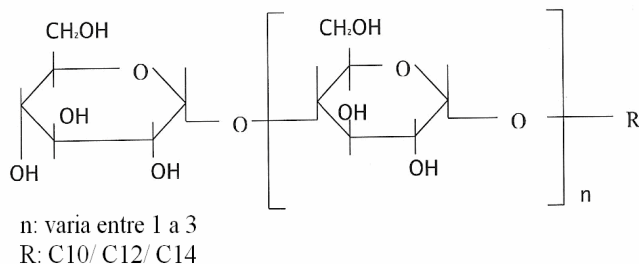


Figura 54: Estrutura química do decil glicosídeo (Fonte: Seppic, 2011c).

5.1.1.1.5. Álcool ceto-estearílico 20 OE

O álcool ceto-estearílico 20 OE, foi fornecido pela empresa Oxiteno (São Paulo, SP), sendo fabricado e comercializado com o nome Ultrol CE-200F. Consiste em um tensoativo etoxilado, obtido a partir do álcool ceto-estearílico condensado com 20 moles de óxido de etileno. Possui valor de HLB igual a 15,4 e ponto de névoa aproximadamente a 89 °C (Ash, 2004; Oxiteno, 2011).

5.1.1.1.6. Poligliceril-3-metilglicose diestearato

O poligliceril-3-metilglicose diestearato, foi fornecido pela empresa Evonik (Alemanha), sendo fabricado e comercializado com o nome Tego care 450. Consiste em um tensoativo não-etoxilado, composto por um diéster do ácido esteárico e o produto de condensação da metilglicose e poliglicerina-3. É adequado para emulsões O/W. Possui valor de HLB aproximadamente igual a 12 (Degussa Goldschmidt, 2011; Evonik, 2011).

5.1.1.2. Sorbitol

O sorbitol, foi fornecido pela empresa Corn Products (São Paulo, SP), sendo fabricado e comercializado com o nome Sorbitol RD-827. Substância química polihidroxilada obtida a partir da hidrogenação de açúcares de milho e/ou cana de açúcar. Por possuir grupos hidroxilas este composto pode interagir intra e intermolecular (ligações de hidrogênio). Na indústria de cosméticos, pode ser utilizado como umectante (substâncias hidrofílicas que mantêm a pele hidratada) e emoliente (substância com ação de manter os tecidos mais macios), além de promover brilho (Butler e Poucher, 2000; Corn Products Brasil, 2011). A sua estrutura está apresentada na Figura 55.

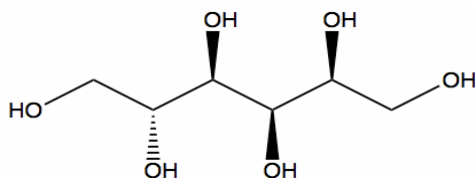
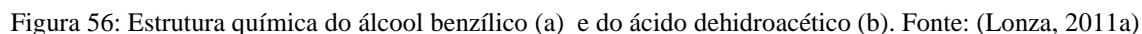


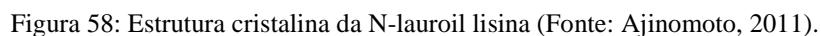
Figura 55: Estrutura química do sorbitol (Fonte: Corn Products Brasil, 2011)

5.1.1.3. Geogard 221

O Geogard 221, foi fornecido pela empresa Lonza (Itália). Consiste em um conservante eficaz contra bactérias e fungos, composto por água, álcool benzílico e ácido dehidro-acético cujas estruturas químicas estão contidas na Figura 56 (Lonza, 2011a):



A N-lauroil lisina, foi fornecida pela empresa Ajinomoto (São Paulo, SP), sendo comercializada com o nome Amihope LL. É obtida através da ligação entre uma molécula de lisina e uma molécula de ácido láurico na posição N-terminal. A estrutura da N-lauroil lisina está ilustrada na Figura 57. É insolúvel em água e óleos, sendo solúvel em soluções aquosa fortemente alcalina ou ácida. Sua estrutura cristalina consiste de cristais hexagonais e planos (Figura 58) e pode proporcionar os seguintes benefícios para a formulação cosmética: suavidade, maciez, sensação sedosa, alta lubricidade, baixo coeficiente friccional, modificação de superfície e efeitos anti-estáticos (Ajinomoto, 2011).



5.1.1.5. Quaternários de amônio

Os quaternários de amônio são muito utilizados em cosméticos para proporcionar condicionamento e efeitos anti-estáticos aos cabelos. Foram utilizados com a finalidade de mudança do potencial zeta da dispersão de nanopartículas para positivo. Os quaternários de amônio utilizados foram: cloreto de cetiltrimetil amônio (CTAC) ou cloreto de cetrimônio, cloreto de beheniltrimetil amônio (BTAC) ou cloreto de behentrimônio e cloreto de estearil dimetilbenzil amônio (SDBAC) ou cloreto de estercalcônio.

O CTAC foi fornecido pela Capuani (Tietê, SP) sendo comercializado com o nome Quatercap C-1650, com 50% de ativos (Capuani, 2011).

O BTAC foi fornecido pela Chemyunion (Sorocaba, SP), sendo comercializado pela KCI Limited (Coréia) com o nome de BTAC 228KC, com 80% de ativos (KCI limited, 2011).

O SDBAC foi fornecido pela Lonza (Itália) com o nome comercial Carsoquat SDQ85 com 85% de ativos (Lonza, 2011b).

As estruturas químicas de cada um destes catiônicos, estão ilustradas na Figura 59 (a, b e c).

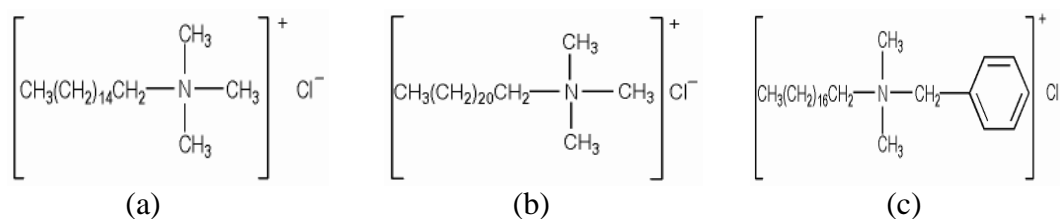


Figura 59: Estrutura química dos quaternários de amônio. (a) CTAC, (b) BTAC e (c) SDBAC. (Fonte: Capuani, 2011; KCI limited, 2011; Lonza, 2011b).

5.1.2. Métodos

5.1.2.1. Determinação da inversão de fase

A inversão de fase de uma emulsão pode ser observada visualmente através de separação de fase do sistema, mudanças na viscosidade e transparência, ou por diminuição significativa na condutividade (Igartua et al, 2002; Saw et al, 2003). Neste trabalho, foram realizadas as medidas

de condutividade de algumas formulações específicas com o objetivo de determinar a inversão de fase, assim como verificar a influência de componentes da formulação sobre o ponto de inversão. Deste modo, foram preparadas as formulações descritas na Tabela 17.

Tabela 17: Formulações realizadas para determinação da inversão de fase pela temperatura, por medidas de condutividade.

Componente	Formulação (% p/p)			
	1	2	3	4
Solução aquosa de NaCl 1% (p/p)	q.s.p. 100			
Cera de carnaúba	10,00	10,00	10,00	10,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	10,00	10,00	10,00
Óleo de mamona PEG-40	10,00	10,00	10,00	10,00
Sorbitol	-	4,00	8,00	8,00
CTAC	-	-	-	1,20
Geogard 221	0,60	0,60	0,60	0,60

Foi utilizado uma solução aquosa de cloreto de sódio (NaCl) 1% (g/100g) com o objetivo aumentar a condutividade da solução e deste modo permitir uma maior variação dos valores, com a temperatura. O procedimento utilizado está descrito no item 5.1.2.2, sendo que o cloreto de cetrimônio, foi adicionado na fase aquosa.

As medidas de condutividade foram realizadas no condutivímetro DM-32 (DIGIMED) com eletrodo modelo DMC-010M ($K=1 \text{ cm}^{-1}$), cuja variação de condutividade compreende a faixa 100 $\mu\text{S/cm}$ a 100 mS/cm (0 a 100 $^{\circ}\text{C}$).

5.1.2.2. Preparação das nanopartículas lipídicas sólidas

O procedimento geral utilizado na preparação das partículas lipídicas foi realizado através da adição da fase aquosa sobre a fase oleosa, sob agitação mecânica a 500 RPM, com temperatura controlada de ambos sistemas entre 85 - 90 $^{\circ}\text{C}$. Após adição da fase aquosa sobre a fase oleosa, o sistema foi aquecido até 97 $^{\circ}\text{C}$, e a seguir resfriado até 5 - 10 $^{\circ}\text{C}$, com utilização de choque térmico instantâneo, onde mergulhou-se cerca de 10 - 20 ml da amostra, em banho de água gelada entre 0 - 10 $^{\circ}\text{C}$.

Em todas as formulações preparadas, a fase lipídica foi composta por uma mistura contendo uma proporção 1:1, entre cera de carnaúba e *Activeshine Amazon*, e utilizando-se

0,60% de Geogard 221, como sistema conservante. As formulações contendo sorbitol, o mesmo foi adicionado na fase aquosa.

Todos os testes realizados tiveram o objetivo de avaliar a influência sobre o diâmetro médio e polidispersidade das partículas e nos casos onde foi incluído os quaternários de amônio, foi avaliado também o efeito sobre o potencial zeta.

A Figura 60, apresenta o fluxograma geral do processo de preparação das nanopartículas sólidas lipídicas. As alterações realizadas de processo, estão descritas nos itens relacionados.

5.1.2.2.1. Efeito da concentração do tensoativo etoxilado

A avaliação do efeito da concentração do tensoativo etoxilado, óleo de mamona PEG-40, na ausência do poliálcool sorbitol, foi realizada através da preparação das formulações 1,5 e 6, contidas na Tabela 18.

Tabela 18: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração do tensoativo etoxilado, óleo de mamona PEG-40, na ausência do poliálcool sorbitol.

Componente	Formulação (% p/p)		
	5	1	6
Água	q.s.p. 100		
Cera de carnaúba	10,00	10,00	10,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	10,00	10,00
Óleo de mamona PEG-40	5,00	10,00	20,00
Geogard 221	0,60	0,60	0,60

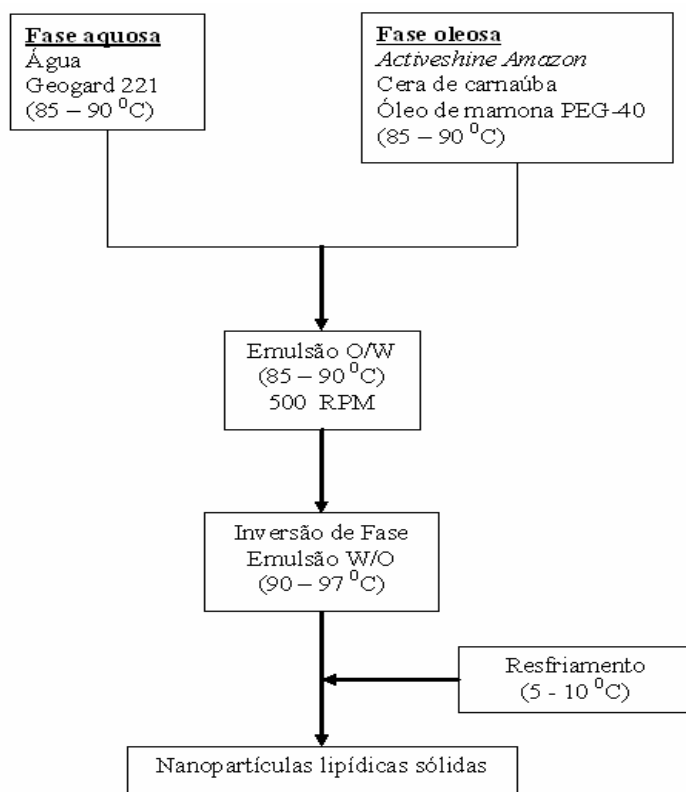


Figura 60: Fluxograma do processo de preparação das nanopartículas lipídicas sólidas, por inversão de fase por temperatura (PIT).

5.1.2.2.2. Efeito da concentração do sorbitol

As formulações 5, 7 e 8, contidas na Tabela 19, foram realizadas para a avaliação do efeito da concentração do poliálcool, sorbitol, na concentração fixa do tensoativo etoxilado, óleo de mamona PEG-40.

Tabela 19: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração do poliálcool, sorbitol.

Componente	Formulação (% p/p)		
	5	7	8
Água	q.s.p. 100		
Cera de carnaúba	10,00	10,00	10,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	10,00	10,00
Óleo de mamona PEG-40	5,00	5,00	5,00
Sorbitol	-	4,00	8,00
Geogard 221	0,60	0,60	0,60

5.1.2.2.3. Efeito da variação da concentração do tensoativo, com concentração constante do sorbitol.

A avaliação do efeito da concentração do tensoativo etoxilado, óleo de mamona PEG-40, na presença do poliálcool, sorbitol, foi realizada através da preparação das formulações 3, 8, 9 e 10, contidas na Tabela 20.

Tabela 20: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração do tensoativo etoxilado, óleo de mamona PEG-40, na presença do poliálcool, sorbitol.

Componente	Formulação (% p/p)			
	8	9	10	3
Água	q.s.p. 100			
Cera de carnaúba	10,00	10,00	10,00	10,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	10,00	10,00	10,00
Sorbitol	8,00	8,00	8,00	8,00
Óleo de mamona PEG-40	5,00	3,00	4,00	10,00
Geogard 221	0,60	0,60	0,60	0,60

5.1.2.2.4. Efeito do tipo de tensoativo

As formulações 8 e 11 a 15, contidas na Tabela 21, foram realizadas com a finalidade de avaliar o efeito do tipo de tensoativo. Os tensoativos caprilil/ capril glicosídeo e decil glicosídeo foram adicionados na fase aquosa, enquanto que os tensoativos polisorbato 60, álcool cetostearílico 20 OE, poligliceril-3-metilglicose diestearato e óleo de mamona PEG-40 foram adicionados na fase oleosa. As concentrações utilizadas de cada um dos tensoativos foram otimizadas de modo a se obter uma formulação homogênea, sem separação de fases ou com presença de partículas visíveis em suspensão.

Tabela 21: Formulações realizadas para avaliação do tipo de tensoativo.

Componente	Formulação (% p/p)					
	8	11	12	13	14	15
Água	q.s.p. 100					
Cera de carnaúba	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Sorbitol	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Caprilil/ capril glucosídeo	-	-	40,00	-	-	-
Decil glicosídeo	-	-	-	36,40	-	-
Álcool cetó-estearílico 20 OE	-	-	-	-	5,00	-
Poligliceril-3-metilglicose diestearato	-	-	-	-	-	5,00
Óleo de mamona PEG-40	5,00	-	-	-	-	-
Polisorbato 60	-	5,00	-	-	-	-
Geogard 221	0,60	0,60	-	0,60	0,60	0,60

5.1.2.2.5. Efeito da concentração de lipídios

A avaliação do efeito da concentração dos lipídios, foi realizada através da preparação das formulações contidas na Tabela 22, onde manteve-se constante a relação entre lipídios/tensoativo etoxilado, na proporção 2:1. Com a finalidade de verificar-se também a influência do choque térmico, foram coletadas amostras com e sem choque térmico. A amostra sem choque térmico, foi resfriada à temperatura ambiente, somente sob agitação mecânica, sem auxílio de banho de água gelada.

Tabela 22: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração dos lipídios.

Componente	Formulação (% p/p)		
	3	16	17
Água	q.s.p. 100		
Cera de carnaúba	10,00	15,00	20,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	15,00	20,00
Óleo de mamona PEG-40	10,00	15,00	20,00
Sorbitol	8,00	8,00	8,00
Geogard 221	0,60	0,60	0,60

5.1.2.2.6. Efeito da ordem de adição das fases aquosa e oleosa

Com a finalidade de avaliar o efeito da ordem de adição das fases aquosa e oleosa, a formulação 8, contendo 8% de sorbitol e 5% de óleo de mamona PEG-40, foi preparada através

de dois tipos de processos: processo 1, que consistiu na adição da fase oleosa sobre a aquosa, e processo 2, que consistiu na adição da fase aquosa sobre a oleosa.

5.1.2.2.7. Efeito da influência da incorporação da N-lauroil lisina e quaternários de amônio

A avaliação do efeito da incorporação da N-lauroil lisina e dos quaternários de amônios (CTAC, BTAC e SDBAC), foi realizada através da preparação das formulações contidas na Tabela 23.

Tabela 23: Formulações realizadas para avaliação do efeito da incorporação da N-lauroil lisina e quaternários de amônio.

Componente	Formulação (% p/p)								
	Sem lauroil lisina	Lauroil lisina (Fase oleosa)*				Lauroil lisina (Solução aquosa alcalina)**			
	3	18	19	20	21	22	23	24	25
Água					q.s.p. 100				
Cera de carnaúba	10,00	10,00	9,50	9,50	9,50	10,00	9,50	9,50	9,50
Activeshine Amazon	10,00	10,00	9,50	9,50	9,50	10,00	9,50	9,50	9,50
Óleo de mamona PEG-40	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Sorbitol	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
CTAC	-	-	2,00	-	-	-	2,00	-	-
BTAC	-	-	-	1,25	-	-	-	1,25	-
SDBAC	-	-	-	-	1,20	-	-	-	1,20
N-Lauroil lisina	-	1,00	1,00	1,00	1,00	-	1,00	1,00	1,00
Geogard 221	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Hidróxido de sódio	-	-	-	-	-	0,27	0,27	0,27	0,27
Ácido sulfúrico	-	-	-	-	-	0,30	0,30	0,30	0,30

onde: * N-Lauroil Lisina dispersa na fase oleosa
 ** N-Lauroil Lisina dispersa em solução aquosa alcalina
 CTAC = Cloreto de cetrimônio a 50% de ativos
 BTAC = Cloreto de behentrimônio a 80% de ativos
 SDBAC = Cloreto de esteralcônio a 85% de ativos

A N-lauroil lisina foi adicionada à formulação com o objetivo de proporcionar efeito anti-estático e diminuição do atrito, e deste modo proporcionar melhor penteabilidade. Os quaternários de amônio foram incorporados à formulação com o objetivo de tornar a carga superficial das partículas positiva, assim como proporcionar maior afinidade das partículas para a fibra capilar e maior estabilidade às nanopartículas.

A N-lauroil lisina foi incorporada na formulação de dois processos: processo 1, onde dispersou-se a N-lauroil lisina em solução aquosa com pH alcalino, com posterior correção para pH neutro, antes de incluir na fase aquosa, e processo 2, onde dispersou-se a N-lauroil lisina no

tensoativo etoxilado e a seguir nos lipídios. Os quaternários de amônio foram incluídos na formulação através de solubilização na fase aquosa.

O fluxograma dos processos utilizados na emulsificação está ilustrado na Figura 61.

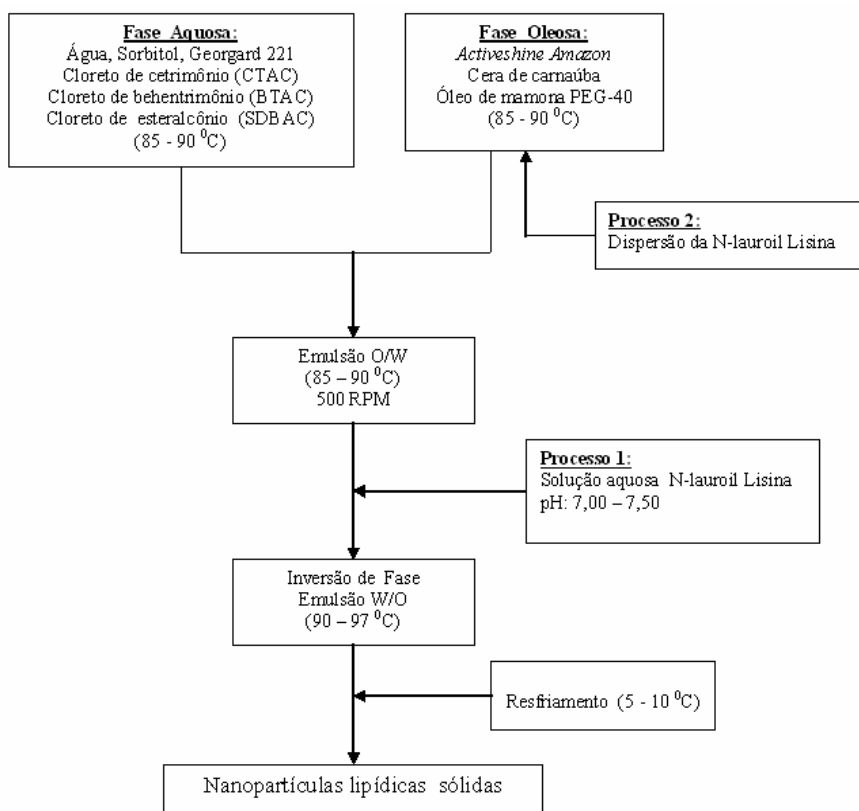


Figura 61: Fluxograma dos processos de emulsificação com a incorporação da N-lauroil lisina e quaternário de amônio, utilizados para a preparação das nanopartículas lipídicas sólidas.

5.1.2.2.8. Estabilidade das partículas compostas por N-lauroil lisina e quaternários de amônio

As formulações 19, 20 e 21, preparadas no item 5.1.2.2.7., contendo 1% de N-lauroil lisina dispersa na fase oleosa, e 1% em ativos dos quaternários CTAC, BTAC ou SDBAC, foram colocadas para avaliação da estabilidade das nanopartículas, nas seguintes condições: escuro (temperatura ambiente), estufa climática (temperatura controlada entre 40 a 45 °C e umidade relativa 75 °C, marca Mecalor, modelo EC-075) e geladeira (temperatura controlada entre 2 a 8 °C), para avaliação da estabilidade das partículas com relação ao diâmetro médio, podispersidade e potencial zeta, por um período de 04 meses.

5.1.2.2.9. Efeito da adição do quaternário de amônio

Com a finalidade de avaliar o efeito da etapa de adição do quaternário de amônio no processo de formação das partículas, foram preparadas as formulações 26 e 27, contidas na Tabela 24.

Tabela 24: Formulações realizadas para avaliação do efeito da etapa de adição do quaternário de amônio.

Componente	Formulação (% p/p)	
	26	27
Água	q.s.p. 100	
Cera de carnaúba	10,00	10,00
<i>Activeshine Amazon</i>	10,00	10,00
Sorbitol	8,00	8,00
Óleo de mamona PEG-40	5,00	5,00
CTAC	-	1,20
N-lauroil lisina	0,50	0,50
Geogard 221	0,60	0,60

A N-lauroil lisina foi adicionada na fase oleosa e a incorporação do quaternário CTAC foi realizada através de dois processos: processo 1, onde adicionou-se o CTAC na fase aquosa, anterior ao processo de emulsificação, e processo 2, onde adicionou-se o CTAC, em solução aquosa a 25% (g/100g) após o processo de emulsificação e formação das partículas.

Os fluxogramas dos processos 1 e 2, estão ilustrado nas Figuras 62 e 63.

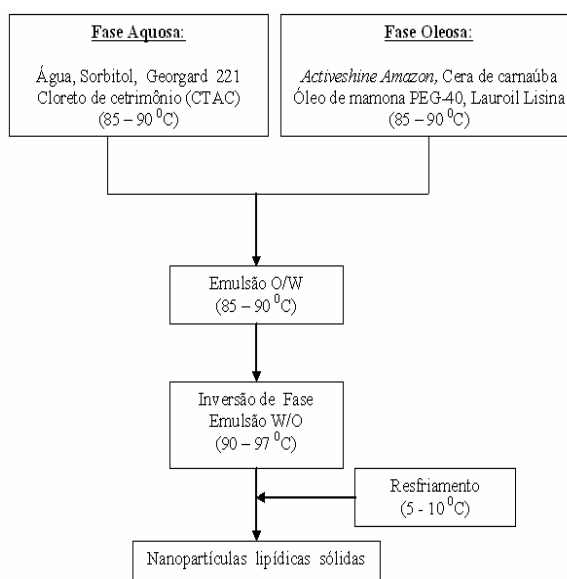


Figura 62: Fluxograma do processo 1. Adição do CTAC antes da formação das partículas.

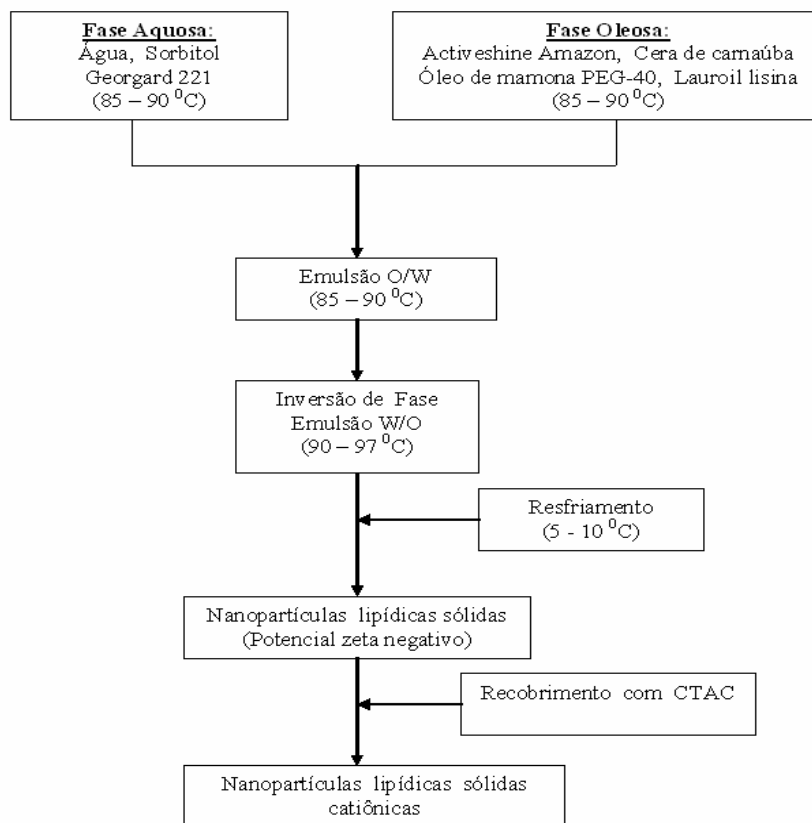


Figura 63: Fluxograma do processo 2. Adição do CTAC após a formação das partículas.

5.1.2.2.10. Efeito da concentração dos quaternários de amônio

A avaliação da concentração dos quaternários de amônios (CTAC, BTAC e SDBAC), foi realizada através da preparação das formulações 28 a 42, contidas na Tabela 25, onde variou-se as concentrações de quaternários nos seguintes valores: 0,10%; 0,20%; 0,30% e 0,60% (g/100g), em ativos, para avaliar o efeito do quaternário de amônio sobre o potencial zeta da dispersão de partículas. As soluções aquosas dos quaternários (solução aquosa com 25% (g/100g)), foram adicionados às partículas após a formação das mesmas, de acordo com o fluxograma da Figura 63, sendo que as soluções aquosas de BTAC e SDBAC foram preparadas através da solubilização em água à 60 °C, seguido por resfriamento à 35 – 40 °C, enquanto que a solução aquosa de CTAC foi preparada à temperatura ambiente.

Tabela 25: Formulações realizadas para avaliação do efeito da concentração dos quaternários de amônio.

Componente	Formulação														
	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
Água	qsp 100,00					qsp 100,00					qsp 100,00				
Cera de carnaúba	10,00					10,00					10,00				
Activeshine Amazon	10,00					10,00					10,00				
Óleo de mamona PEG-40	5,00					5,00					5,00				
Sorbitol	8,00					8,00					8,00				
CTAC	0	0,20	0,40	0,60	1,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BTAC	-	-	-	-	-	0	0,125	0,250	0,375	0,750	-	-	-	-	-
SDBAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,118	0,235	0,350	0,705
Geogard 221	0,60					0,60					0,60				

CTAC = 50% de ativos

BTAC = 80 % de ativos

SDBAC = 85% de ativos

5.1.2.3. Caracterização das nanopartículas lipídicas sólidas

As partículas foram caracterizadas por calorimetria diferencial de varredura (DSC), diâmetro hidrodinâmico médio, polidispersidade e potencial zeta.

5.1.2.3.1. Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersidade, por espectroscopia de correlação de fótons (PCS)

O diâmetro hidrodinâmico medido pelo espalhamento de luz dinâmico (DLS) (também conhecido como espectroscopia de correlação de fótons – PCS), é definido como o tamanho de uma esfera hipotética rígida que difunde ao mesmo tempo que a medida está sendo realizada. Na prática, as macromoléculas em solução são não esféricas, dinâmicas e solvatadas. Por esta razão, o diâmetro calculado a partir de propriedades difusionais da partícula é um indicativo do diâmetro aparente da partícula dinâmica hidratada/ solvatada, conhecido como diâmetro hidrodinâmico (Malvern, 2005).

A espectroscopia de correlação de fótons mede o movimento browniano e relaciona este movimento ao tamanho das partículas. Isto é feito pela irradiação das partículas com laser e analisando as flutuações da intensidade da luz espalhada. As partículas suspensas em um líquido nunca estão estacionárias, estando constantemente em movimento devido ao movimento browniano, que consiste no movimento aleatório das partículas devido às colisões com as

moléculas do líquido que circunda as mesmas. Uma importante característica do movimento browniano, é que partículas pequenas se movem rapidamente, e as partículas grandes lentamente.

A função correlação da intensidade espalhada, é definida como o produto da intensidade espalhada no detector no tempo t , e após um curto período de tempo, $t+\Delta t$. O PCS mede a velocidade de decaimento da função intensidade espalhada em função do tempo, sendo determinado o coeficiente de difusão, mediante análise numérica.

A análise da função correlação, pode ser realizada através do método cumulativo, onde ajusta-se o logaritmo da função correlação por um polinômio de baixa ordem, tal como descrito pela equação (13) (Allen, 1996; Malvern, 2005):

$$\ln [G(\tau)] = a + bt + ct^2 + dt^3 + et^4 + \dots \quad (13)$$

O valor do coeficiente b é conhecido como coeficiente difusional. Este termo é convertido para o tamanho de partículas usando a equação de Stokes–Einstein (Equação 14) (Allen, 1996; Malvern, 2005; Souto, 2005).

$$D_H = (k T) / (6 \pi \eta D) \quad (14)$$

onde:

D_H : Diâmetro hidrodinâmico

k : constante de Boltzmann

T : Temperatura absoluta

η : viscosidade da solução dispersante

D : Coeficiente de difusão

Instrumentalmente, o equipamento mede as flutuações da intensidade do sinal através de uma função correlação que mede o grau de similaridade entre dois sinais em um período de tempo, que transforma a velocidade de decaimento, através de um algoritmo, em distribuição de tamanho. A velocidade de decaimento da função correlação para partículas pequenas é muito mais rápida que para partículas grandes (Figuras 64 e 65).

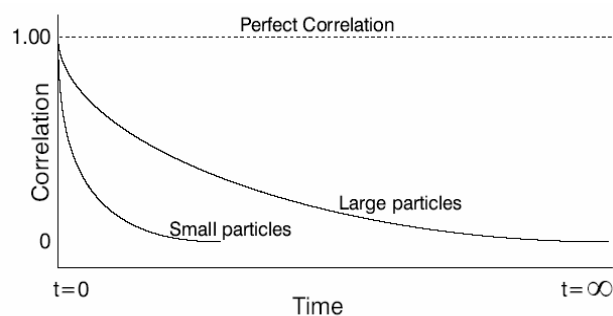


Figura 64: Função correlação da intensidade espalhada em função do tempo, para partículas pequenas e grandes (Fonte: Malvern, 2005).

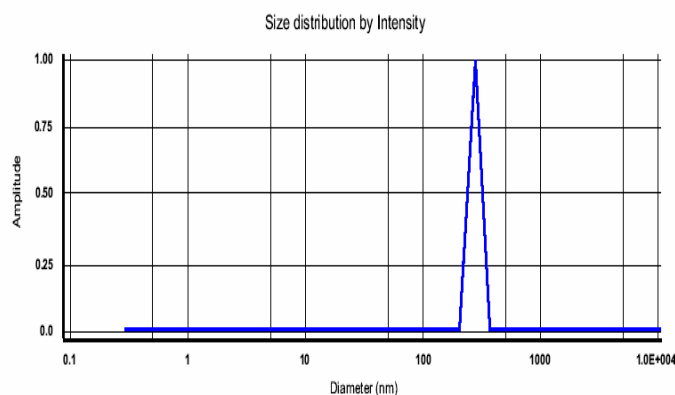


Figura 65: Gráfico típico de distribuição de tamanho. Eixo y, mostra a intensidade relativa da luz espalhada. Eixo x, mostra a distribuição de tamanho (Fonte: Malvern, 2005).

Embora a distribuição de tamanho fundamental gerada pelo DLS é a distribuição por intensidade, esta pode ser convertida, usando a teoria de Mie, para uma distribuição por volume, que por sua vez também pode ser convertida para uma distribuição por números (Malvern, 2005).

A distribuição de intensidade, volume e número são proporcionais ao diâmetro elevado à sexta, terceira e primeira potência, respectivamente. Portanto, torna-se necessário considerar as distribuições em volume ou número sempre associadas à distribuição por intensidade, para uma melhor análise dos resultados (Malvern, 2005).

A análise da função correlação da intensidade espalhada, além de fornecer o valor médio para o tamanho das partículas, fornece também um parâmetro de distribuição conhecido como polidispersidade. O coeficiente do termo quadrático (Equação 13), c , expresso como $2c/b^2$, é conhecido como polidispersidade ou índice de polidispersidade (PDI). Este índice caracteriza o espalhamento das velocidades de decaimento e portanto o espalhamento do tamanho da partícula

sobre o valor médio. Para distribuições modomodais o valor do PDI situa-se abaixo de 0.1, enquanto que para largas distribuições o valor do PDI é superior a 0.5 (Allen, 1996; Malvern, 2005).

Neste trabalho, as medidas do diâmetro hidrodinâmico e polidispersidade foram realizadas por espectroscopia de correlação de fótons (PCS), utilizando laser de alta potência. O sinal foi analisado através do espalhamento de luz “quasi elastic light scattering”. O equipamento utilizado foi o Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Modelo ZEN 3600), sendo as amostras foram previamente diluídas em água (100 µl de amostra em 200 mL de água deionizada) e inseridas em cubeta apropriada, para a realização das medidas. As medidas foram realizadas no mínimo com 10 leituras, em triplicata de cada amostra. Os resultados de diâmetro são fornecidos em nanômetros (nm), sendo considerado a distribuição por número.

5.1.2.3.2. Potencial zeta

O potencial zeta de uma partícula é uma medida do potencial de superfície possuído pela partícula. Consiste em uma medida eletrocinética que envolve efeitos de movimento e fenômeno elétrico na região de dupla camada (Stern e difusa) (Figura 66). Estas camadas são formadas pela presença de contra-íons e co-íons ao redor da superfície coloidal para neutralizar suas cargas. A camada Stern é a mais próxima e a primeira a envolver o colóide, tendo como principal característica uma grande rigidez, pois é formada apenas pelos contra-íons. A camada difusa também é formada por contra-íons que estão em equilíbrio dinâmico, no qual tentam se aproximar do colóide, sofrendo repulsão pela presença da camada Stern. Esta variação de contra-íons que ocorre entre a superfície do colóide e o seio do líquido promove a formação de um potencial elétrico, que é determinado potencial de superfície. Assim, se um campo elétrico é aplicado, o fenômeno de eletroforese ocorre, e as partículas coloidais irão movimentar-se, com mobilidade que depende do potencial elétrico criado entre a camada que envolve as partículas e o seio do líquido, além da viscosidade, da constante dielétrica do meio e da intensidade do campo elétrico (Malvern , 2005; Souto, 2005)

Deste modo, o potencial zeta é a medida de um fenômeno de superfície, definido como potencial elétrico no ponto de junção entre a camada de Stern e difusa, e o seu cálculo está

relacionado com a determinação da mobilidade eletroforética, através da equação de Henry (Equação 15)(Malvern, 2005):

$$U_E = \frac{2 \epsilon z f(\kappa a)}{3\eta} \quad (15)$$

onde:

U_E : Mobilidade eletroforética

z : potencial zeta

ϵ : constante dielétrica

η : viscosidade

$f(\kappa a)$: Função de Henry. Para medidas em meios aquosos, esta função é aproximada para 1,5, sendo denominada como aproximação de Smoluchowski.

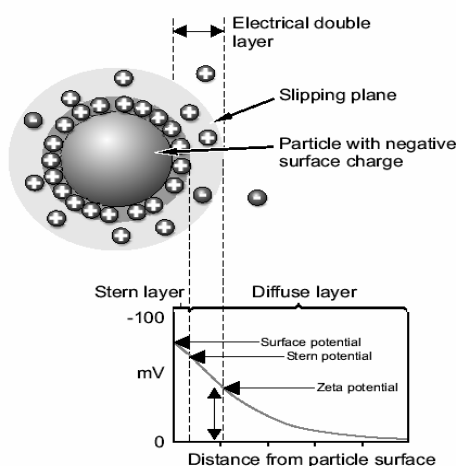


Figura 66: Representação esquemática do potencial zeta (Fonte: Malvern, 2005).

De modo geral, as dispersões com potencial zeta maior que 30 mV (em valor absoluto) são consideradas fisicamente estáveis. O potencial zeta pode variar através de várias maneiras: absorção de íons na superfície, grupos químicos na superfície e segregação superficial de um material preferencialmente, sendo que o fator que mais afeta é o pH. (Malvern, 2005)

Neste trabalho as medidas de potencial zeta foram feitas no equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern, modelo ZEN 3600), sendo as amostras previamente diluídas em água (100 µl de amostra em 200 mL de água deionizada) e injetadas nas cubetas apropriadas com o auxílio

de uma seringa de 10 mL para a realização das medidas. As medidas foram realizadas com uma média de 10 leituras em triplicata de cada amostra. Os resultados são fornecidos em milivolts (mV).

5.1.2.3.3. Comportamento térmico na fusão

Neste trabalho, a avaliação do comportamento térmico da dispersão das nanopartículas foram realizadas por DSC, em equipamento da TA Instruments (DSC 2920, New Castle, DE). Foram realizadas as análises das nanopartículas preparadas a partir das formulações 19, 20 e 21, contidas na Tabela 23, no item 5.1.2.2.7. A quantidade de 5 - 10 mg de amostra de partículas lipídicas foram acuradamente pesadas em cadinhos de alumínio, sendo realizado o comportamento térmico das partículas na fusão.

Para o registro das curvas de aquecimento das partículas lipídicas foi utilizado a seguinte programação: resfriamento a uma taxa de 10°C/minuto até 0°C, manutenção em 0°C por 5 minutos, aquecimento de 0 a 200 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/ min, com atmosfera de nitrogênio (fluxo de 50 mL/min). A referência utilizada foi um cadinho de alumínio vazio e o equipamento foi calibrado com Índio.

5.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A finalidade deste capítulo é discutir e apresentar os resultados obtidos na preparação e caracterização das nanopartículas lipídicas sólidas obtidas por inversão de fase por temperatura.

5.2.1. Determinação da inversão de fase

O processo de preparação de nanopartículas lipídicas sólidas por inversão de fase por temperatura (PIT) pode ser compreendido e comprovado por medidas de condutividade. A condutividade é muito utilizada para estudar este fenômeno, assim como compreender o efeito da adição de alguns aditivos, conforme discutido em cada um dos itens mencionados a seguir.

Os resultados das medidas de condutividade, das formulações 1 a 4, estão apresentados na Tabela 29 (anexo II) e ilustrados na Figura 67.

A Figura 67 mostra a região onde ocorre a diminuição significativa de condutividade e comprova o fenômeno da inversão de fase por temperatura.

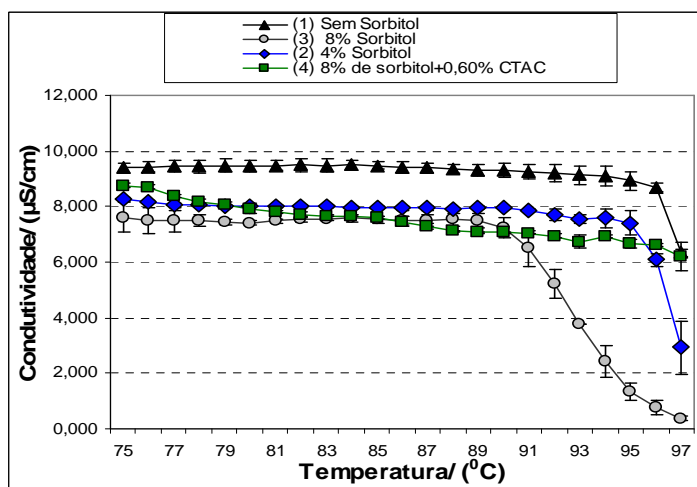


Figura 67: Resultados de condutividade, no aquecimento, das formulações: (1) sem sorbitol, (2) com 4% de sorbitol, (3) com 8% de sorbitol, e (4) com 8% de sorbitol + 0,60% de CTAC.

A formulação 3, contendo 8% de sorbitol, ilustra bem o processo de inversão de fase por temperatura, típico de tensoativos etoxilados não-iônicos,. Verifica-se que a partir de aproximadamente 90 $^{\circ}\text{C}$ começa a ocorrer uma diminuição gradativa no valor da condutividade.

A partir de 94 °C há uma diminuição drástica na condutividade. A região compreendida entre 90 – 97 °C compreende a região denominada região de inversão de fase (Heurtalt et al, 2002). Inicialmente o valor alto da condutividade indica que a água é a fase contínua e caracteriza uma emulsão O/W, enquanto que a partir de 90 °C, ocorre uma transformação nas propriedades físico-químicas do sistema, indicado pela diminuição da condutividade, e a fase contínua passa a ser o óleo, caracterizando uma emulsão W/O (Anton et al, 2007).

À baixas temperaturas, a camada de surfactante tem uma curvatura espontânea positiva (micela direta) formando microemulsões O/W. À altas temperaturas, a curvatura espontaneamente torna-se negativa (micela inversa) e forma-se uma microemulsão W/O, conforme ilustrado pelas Figuras 68 e 69. (Calderon et al, 2007):

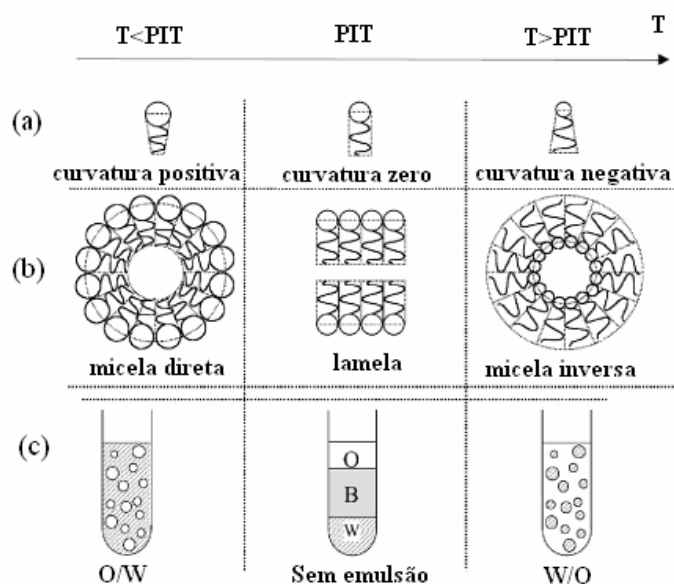


Figura 68: Influência da temperatura, sobre (a) morfologia do tensoativo. (b) organização da micela. (c) tipo de emulsão. (Fonte: adaptado de Calderon et al (2007)).

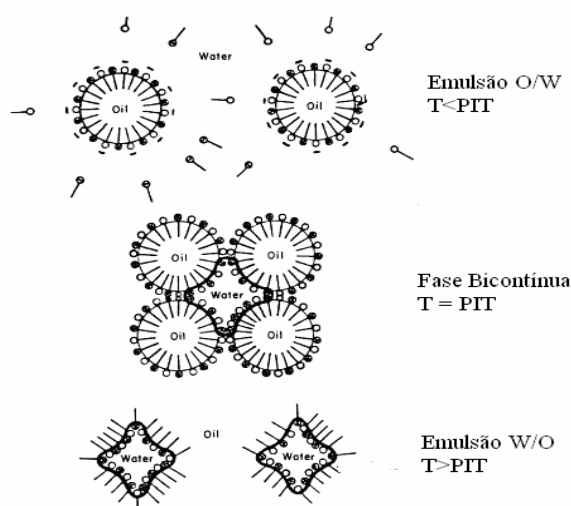


Figura 69: Mudanças da curvatura da emulsão durante o processo de inversão de fases por temperatura, com a elevação da temperatura. (Fonte: adaptado de Rosen (2004)).

À temperaturas intermediárias, na temperatura média de HLB, a curvatura espontaneamente torna-se próxima de zero e uma fase lamelar bicontínua D, fase microemulsão forma-se, conforme é mostrado na Figura 70.

O método de emulsificação por PIT utiliza-se do fato que tensões interfaciais extremamente baixas são atingidas na temperatura média de HLB. Neste ponto, o tamanho das gotas atinge um mínimo. Pelo resfriamento extremamente rápido, as emulsões preparadas na temperatura de HLB, podem ser produzidas com tamanho de gota muito pequeno e com estreita distribuição (Tadros et al, 2004; Solans et al, 2005, Calderon, 2007).

A formação da nanoemulsão pode ocorrer por dois mecanismos: a) a partir de uma fase simples de microemulsão D, e b) a partir de um sistema de uma microemulsão D, com excesso de água. O rompimento térmico da fase de microemulsão D ocorre com a hidratação muito rápida dos grupos etoxilados, aumentada pela redução da temperatura, promovendo uma mudança na curvatura da monocamada de surfactante e consequentemente a formação das nanopartículas lipídicas sólidas (Solans et al, 2005; Calderon et al, 2007). No processo de preparação das nanopartículas lipídicas sólidas deste trabalho, verificou-se separação de fases em temperaturas acima de 85 °C, sugerindo que o processo b, é o mais provável. Uma representação esquemática dos possíveis mecanismos da formação da nanopartículas pelo método PIT é descrito na Figura 70 (Solans et al, 2005):

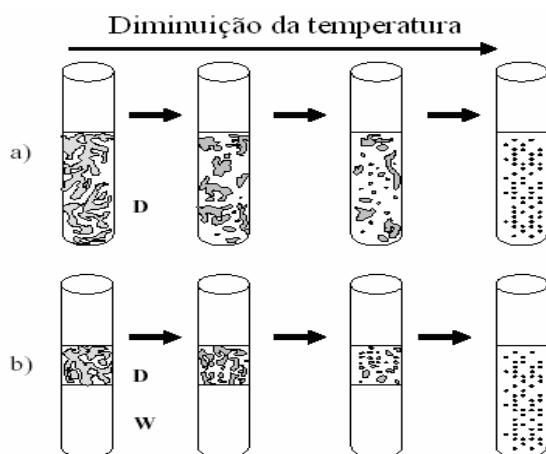


Figura 70: Processo de formação das nanopartículas pelo processo de inversão de fases por temperatura (PIT), com a diminuição da temperatura. (a) Processo com formação de uma fase simples de microemulsão D, e (b) processo composto por uma fase de microemulsão D, com excesso de água. (Fonte: adaptado de Solans et al, (2005)).

Pode-se verificar pelas curvas da Figura 67, que há uma diferença significativa entre a condutividade da formulação com e sem sorbitol. A presença do sorbitol diminui significativamente a temperatura média de inversão de fase, sendo esta influenciada pela concentração deste poliálcool. Sem a presença do sorbitol na formulação, o processo de inversão de fase inicia-se numa temperatura média mais elevada ($T=96^{\circ}\text{C}$), e não é completamente finalizado. A temperatura média de inversão de fase é reduzida com a presença deste poliálcool, sendo o processo de inversão completo com a utilização de uma alta concentração do sorbitol.

A temperatura média da inversão de fase está diretamente relacionada com o HLB e com o ponto de névoa, sendo que quanto maior o valor de HLB, maior o ponto de névoa e quanto maior o ponto de névoa, maior a temperatura média de inversão de fase, sendo que a mesma pode ser influenciada por diversos aditivos, assim como a concentração dos mesmos na formulação (Shinoda e Arai, 1964; Shinoda, 1969; Na et al, 1999).

A presença de cátions monovalentes, tal como íons Na^{+} , diminui o ponto de névoa, por desidratação, e deste modo a temperatura média de inversão de fase. O sorbitol, assim como outros poliálcoois e sacarídeos, apresenta o mesmo efeito. Lipídios tendem a aumentar o ponto de névoa, e deste modo a temperatura média de inversão de fase, sendo que quanto maior a cadeia carbônica do lipídeo, maior este efeito (Shinoda e Arai, 1964; Na et al, 1999).

O ponto de névoa, que é característico de cada tensoativo não iônico etoxilado, possui o valor próximo a 93°C para o óleo de mamona PEG-40. Pode-se verificar pela Figura 67, que a

formulação sem a presença de sorbitol e na presença deste tensoativo, apresentou início de processo de inversão de fase em 97 °C, sendo mais elevado que a temperatura de névoa deste tensoativo. Este fato pode ser explicado pela presença dos lipídios que tendem a elevar a temperatura de névoa e consequentemente a temperatura média de inversão de fase (Shinoda e Arai, 1964; Na et al, 1999).

A inversão de fases de emulsões contendo tensoativos não-iônicos, à elevadas temperaturas, é resultado de associação intermolecular dirigida pela interação hidrofóbica entre as cadeias carbônicas do surfactante e/ou diminuição da hidratação da cadeia de óxido de etileno. O tensoativo catiônico, CTAC, aumenta a temperatura média de inversão de fase pela interação hidrofóbica das cadeias apolares dos lipídios com a porção apolar do tensoativo, provavelmente na forma de micelas mistas. Tal associação, fornecerá também ao tensoativo não iônico, espécies iônicas, e deste modo a força repulsiva entre as cargas eletrostáticas poderiam prevenir ou retardar a coalescência e consequentemente provocar o aumento da temperatura média de inversão de fase (Na et al, 1999).

A diminuição da temperatura média de inversão de fase provocada pelo sorbitol, está relacionada com a teoria da interação preferencial, que altera a hidratação do tensoativo, em preferência ao poliálcool. (Na et al, 1999; Shpigleman et al, 2008).

5.2.2. Efeito da concentração do tensoativo etoxilado

Os resultados obtidos para avaliação da influência da concentração do tensoativo etoxilado (Formulações 1, 5 e 6), estão apresentados na Tabela 30 (anexo II) e ilustrados na Figura 71.

Pode-se verificar que para a obtenção de partículas com menor diâmetro é necessário a utilização de concentração de tensoativo mais elevada, estando de acordo com resultados apresentado por Mehnert e Mader (2001). Uma maior concentração de tensoativo permite um maior recobrimento de partículas com menor diâmetro. Quanto menor o tamanho das partículas, maior a área superficial das mesmas, sendo necessário uma maior concentração de tensoativo para um eficaz recobrimento. A presença do tensoativo na superfície das partículas impede que haja aglomeração das mesmas, permitindo a obtenção de partículas com menor diâmetro.

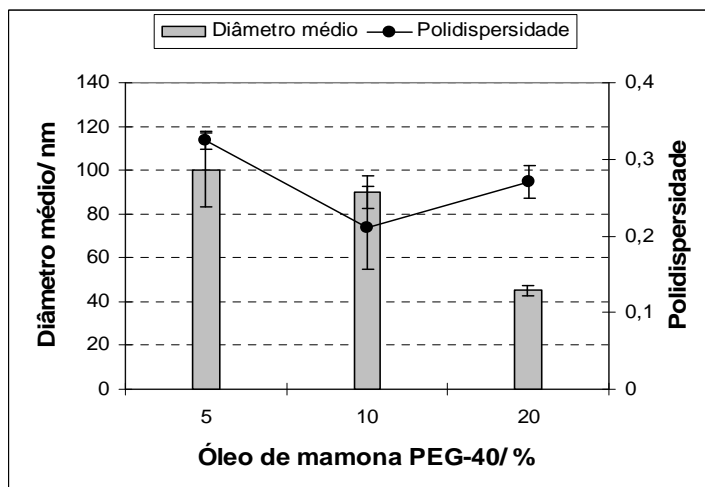
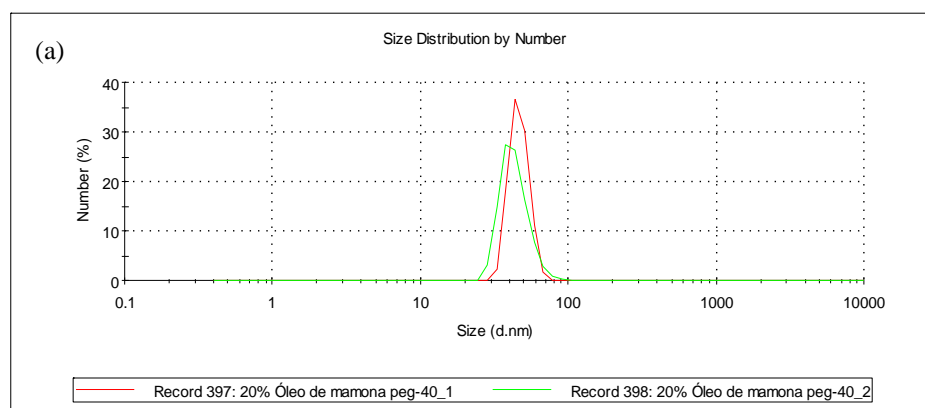


Figura 71: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função da concentração do tensoativo óleo de mamona PEG-40, sem a presença de sorbitol (Formulações 1, 5 e 6).

A utilização de alta concentração de lipídios influenciou no deslocamento da temperatura média de inversão de fases, para um valor superior a 93°C , valor este encontrado na literatura para o tensoativo a 1% em água (Na et al, 1999). Deste modo, o processo de inversão de fase não se completa (vide Figura 67), influenciando na polidispersidade das partículas, assim como na presença de mais de uma população. A utilização de 20% e 5% de tensoativo, não é adequada para obtenção de uma única população de partículas, enquanto que para 10% de tensoativo, demonstrou ser a concentração ótima, obtendo-se uma única população de partículas.

As Figuras 72 a 74, apresentam os resultados obtidos nas distribuições por número e intensidade, das nanopartículas obtidas com as formulações 1, 5 e 6.



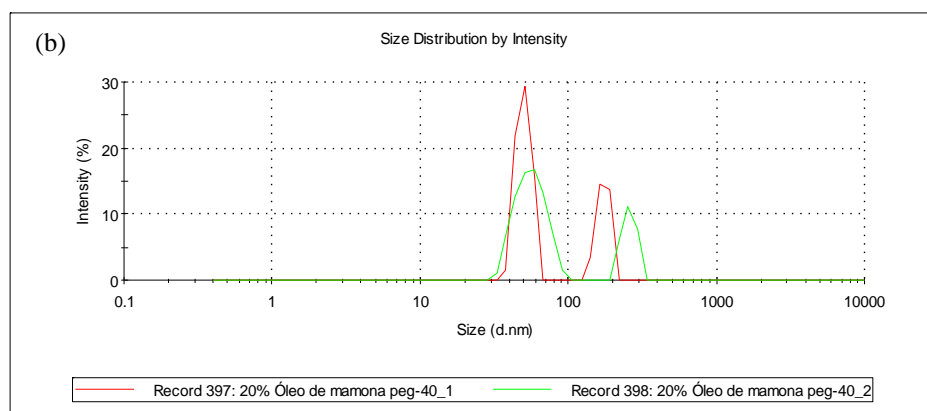


Figura 72: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas na formulação 6 (20% óleo de mamona PEG-40, sem sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

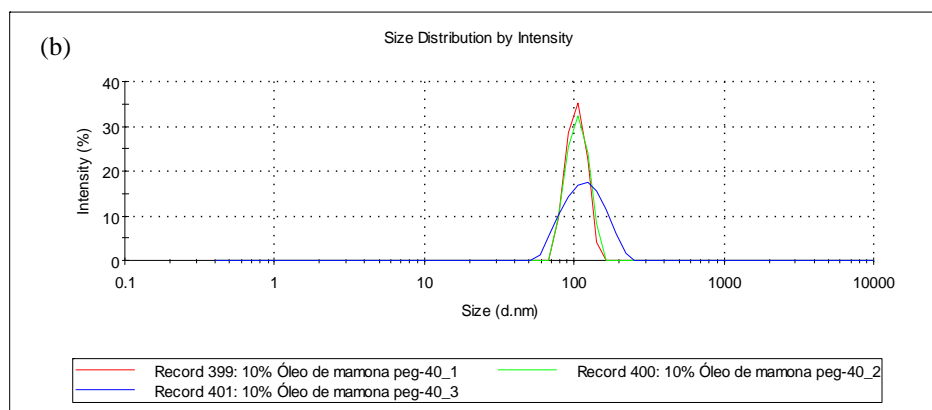
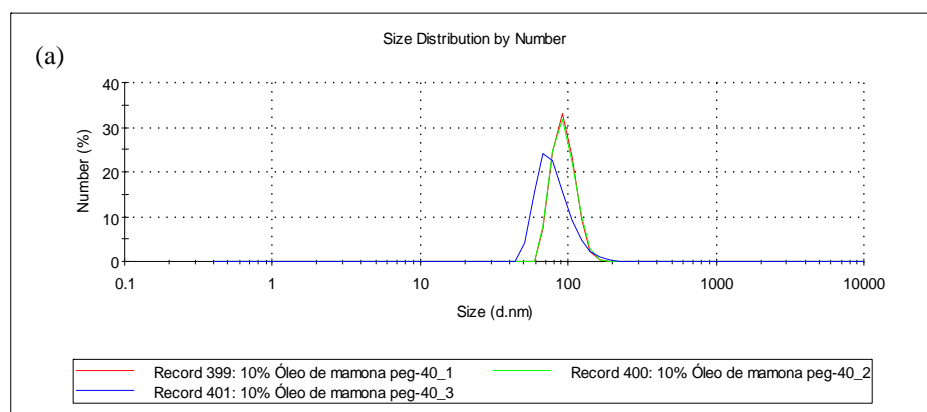


Figura 73: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas na formulação 1 (10% óleo de mamona PEG-40, sem sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

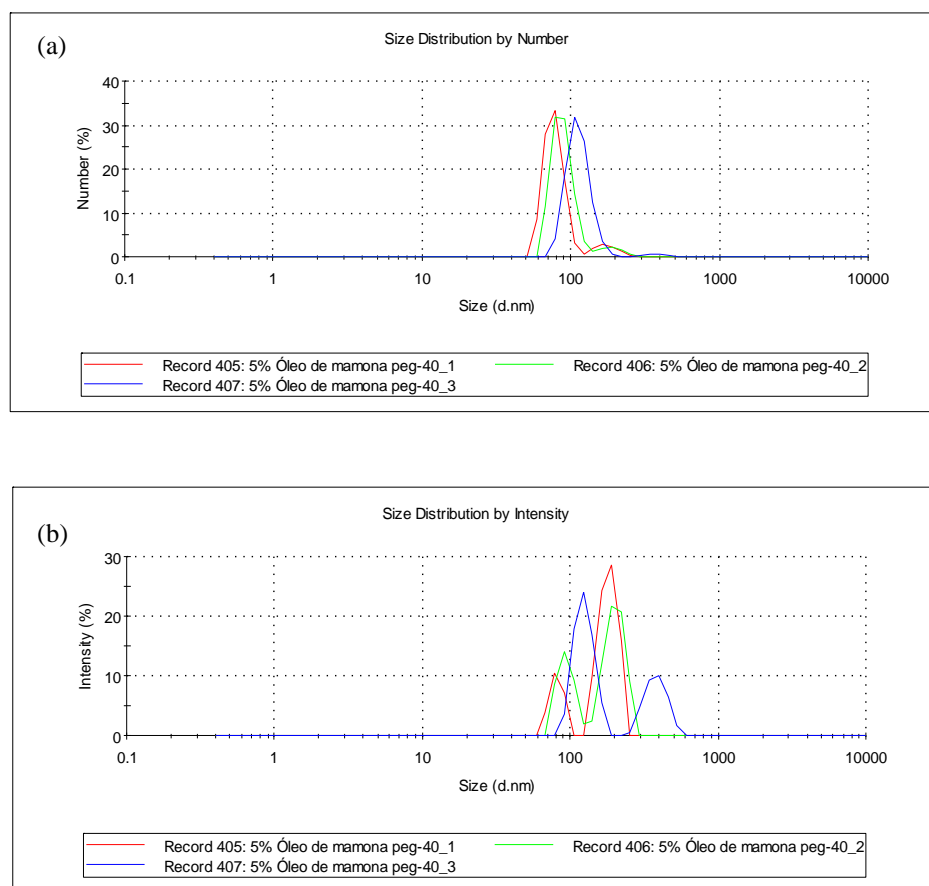


Figura 74: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas na formulação 5 (5% de óleo de mamona PEG-40, sem sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

5.2.3. Efeito da concentração do sorbitol

Os resultados obtidos para avaliação do efeito da concentração do sorbitol, na presença do tensoativo etoxilado ((Formulações 5, 7 e 8), estão apresentados na Tabela 31 (anexo II) e ilustrados na Figura 75.

Pelos resultados destas formulações, pode-se verificar que partículas com maior diâmetro são obtidas quando utiliza-se maior concentração de sorbitol, enquanto que a polidispersidade diminui com a utilização de maior concentração de sorbitol. Outra influência importante sobre a influência do sorbitol sobre a qualidade das partículas obtidas foi verificada com a concentração de 8% de sorbitol na formulação, onde verificou-se a presença de apenas

uma população na distribuição por intensidade, enquanto que observa-se duas populações de partículas quando não se utiliza o sorbitol (formulação 5, Figura 74b).

A diminuição da polidispersidade está relacionada com o fato que o sorbitol desloca a temperatura média de inversão de fase para valores menores, permitindo que o processo de inversão seja praticamente completo com 8% de sorbitol (vide Figura 67). Isto também justifica a presença de uma única população de partículas, obtidas com 8% de sorbitol (formulação 8, Figura 77).

O aumento no diâmetro das partículas está relacionado possivelmente com o fato que o sorbitol tende a ficar adsorvido na superfície das partículas.

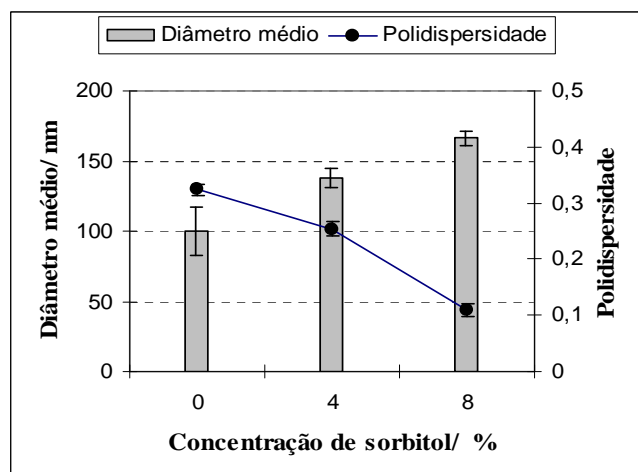


Figura 75: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função da concentração de sorbitol, na presença de 5% óleo de mamona PEG-40 (Formulações 5, 7 e 8).

As Figuras 76 e 77, apresentam as distribuições por número e intensidade das partículas obtidas com as formulações 7 e 8.

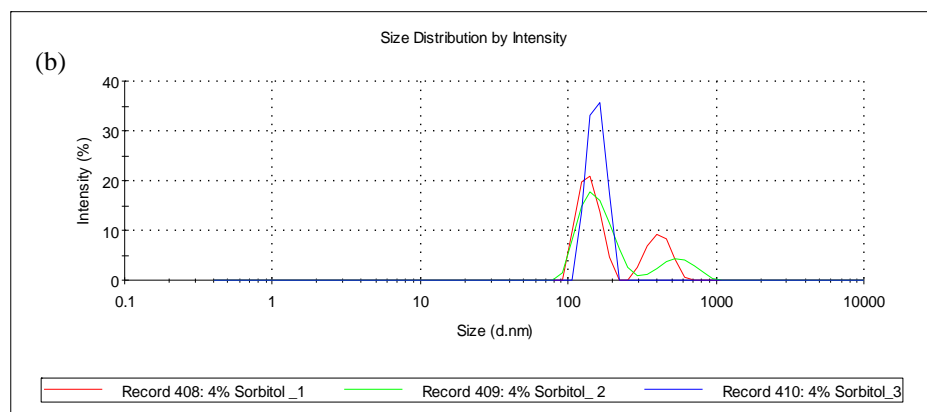
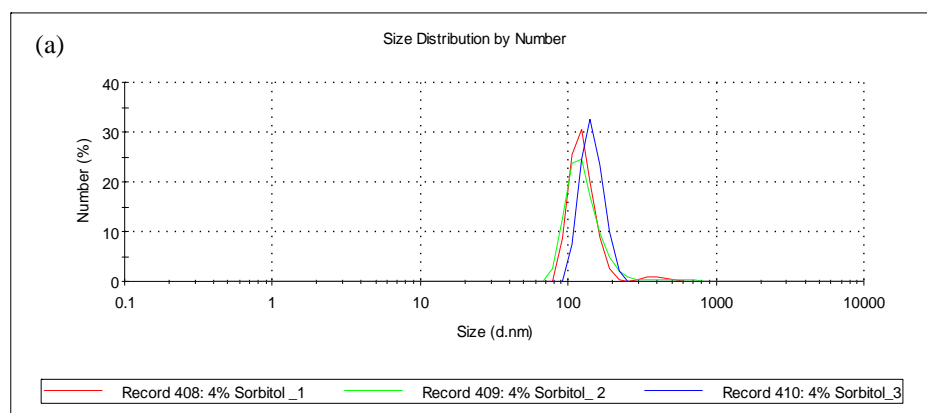
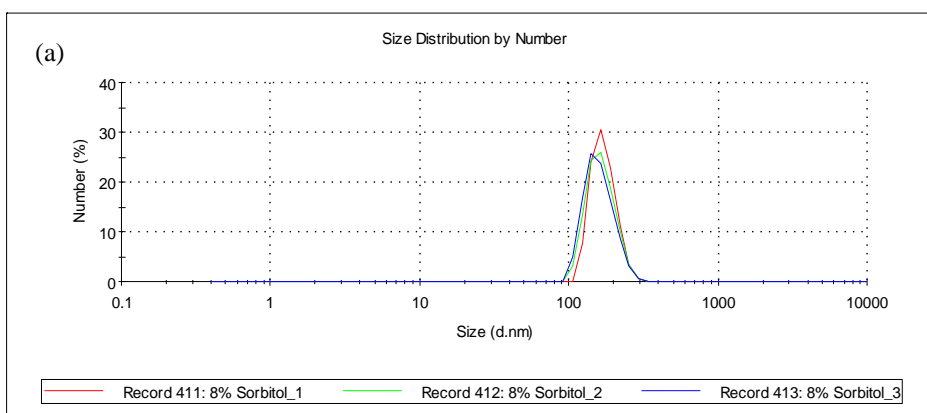


Figura 76: Diâmetro médio das partículas obtidas com a formulação 7 (4% de Sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.



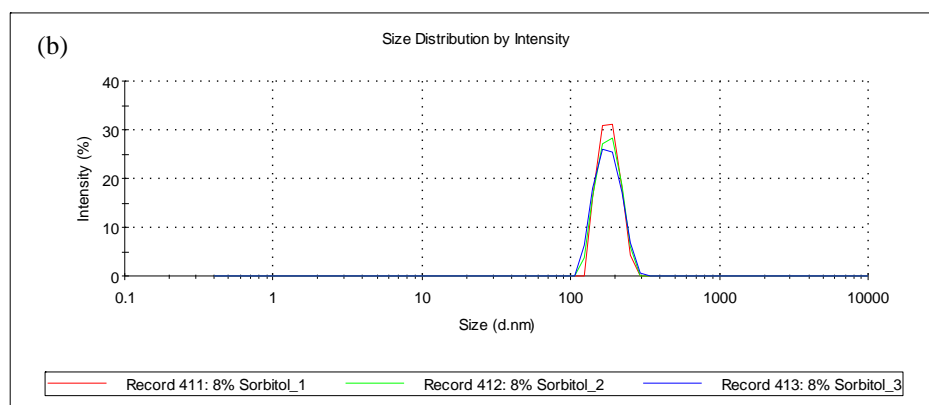


Figura 77: Diâmetro médio das partículas obtidas com a formulação 8 (8% de Sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

5.2.4. Efeito da variação da concentração do tensoativo na presença do sorbitol

Os resultados obtidos dos testes realizados onde avaliou-se o efeito da concentração do tensoativo óleo de mamona PEG-40, na presença do sorbitol (Formulações 3, 8, 9 e 10), estão apresentados na Tabela 32 (anexo II) e ilustrados na Figura 78.

Pelos resultados obtidos, pode-se verificar que partículas com maior diâmetro são obtidas quando utiliza-se menor concentração de tensoativo. A polidispersidade aumenta com a utilização de menor concentração de tensoativo. Outra influência importante do tensoativo sobre a qualidade das partículas pode ser verificada quando utiliza-se uma baixa concentração do mesmo, onde observa-se a presença de mais de uma população de partículas na distribuição por número e intensidade (Figura 81).

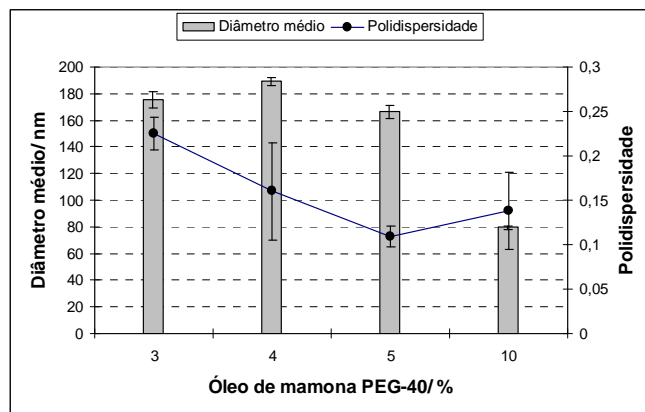


Figura 78: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função da concentração de óleo de mamona PEG-40, na presença de Sorbitol (Formulações 3, 8, 9 e 10).

Estes resultados estão relacionados provavelmente com o deslocamento da temperatura média de inversão de fase para valores mais elevados com a diminuição da concentração do tensoativo, fazendo com que o processo de inversão não seja completo, estando associado também ao fato que a quantidade insuficiente de tensoativo não promove a formação das fases bicontínuas lamelares. Deste modo, ocorre uma elevação no diâmetro e polidispersidade das partículas, que ocorre provavelmente devido a coalescência das partículas, que não é impedido pela quantidade insuficiente de tensoativo.

As Figuras 79 a 81 apresentam as distribuições por número e intensidade, das partículas obtidas com as formulações 3, 9 e 10.

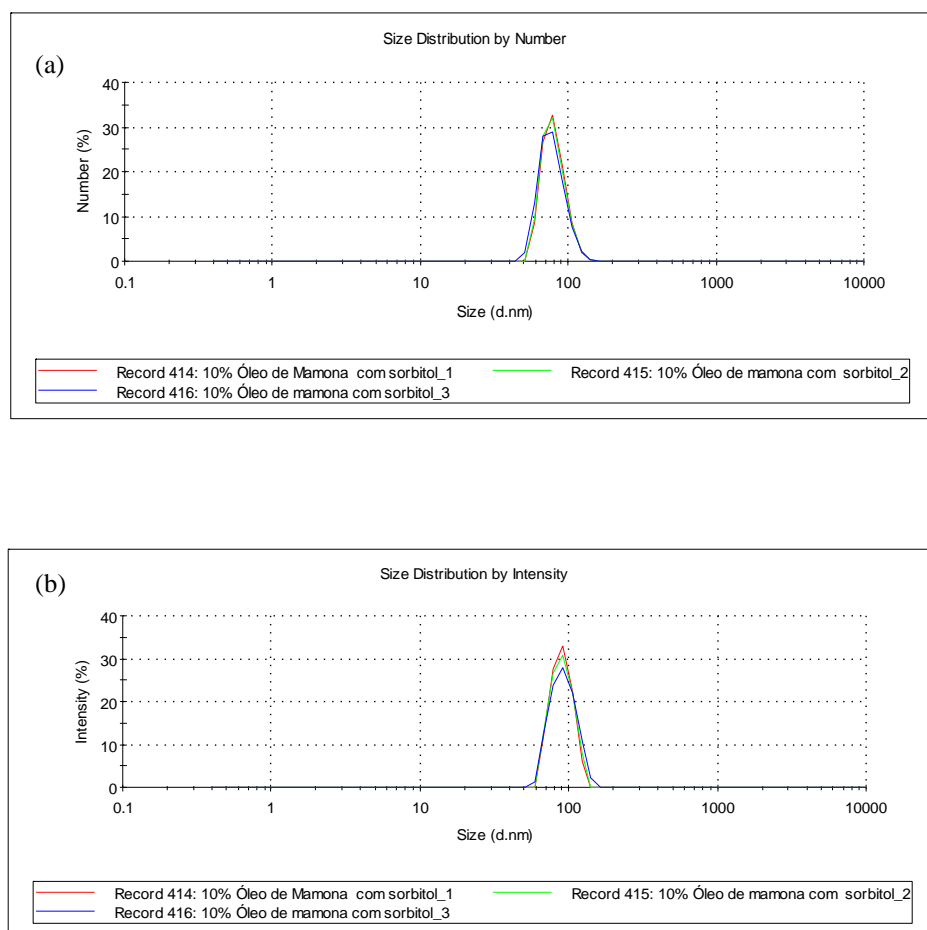


Figura 79: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 3 (10% de óleo de mamona PEG-40 e 8% de sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

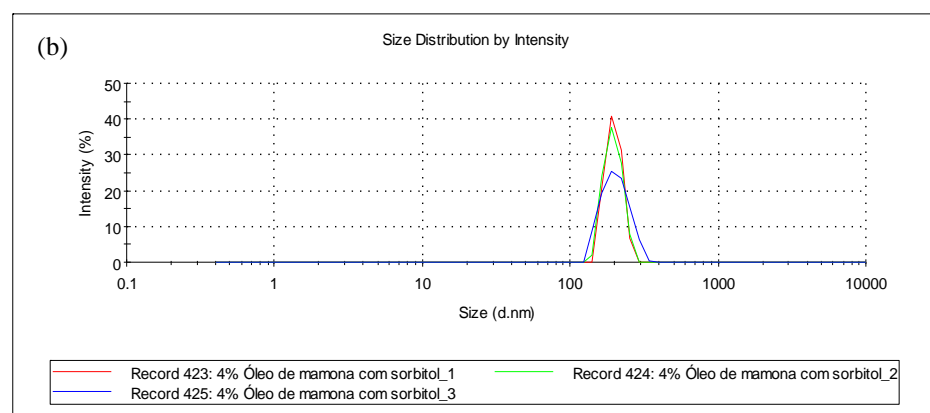
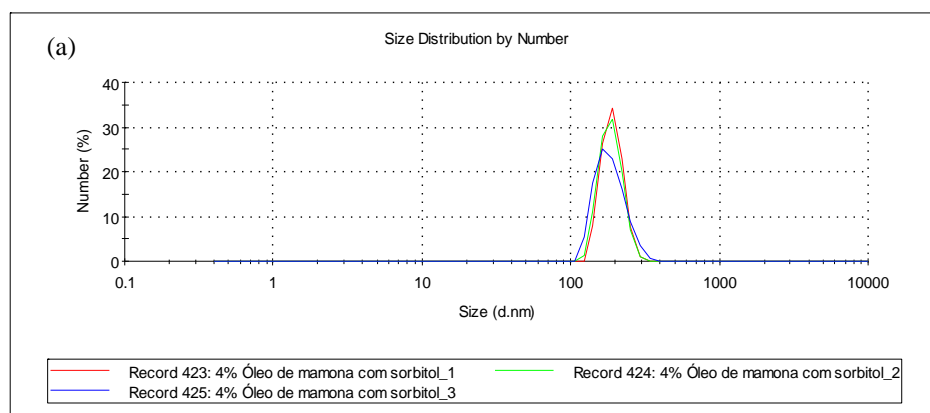
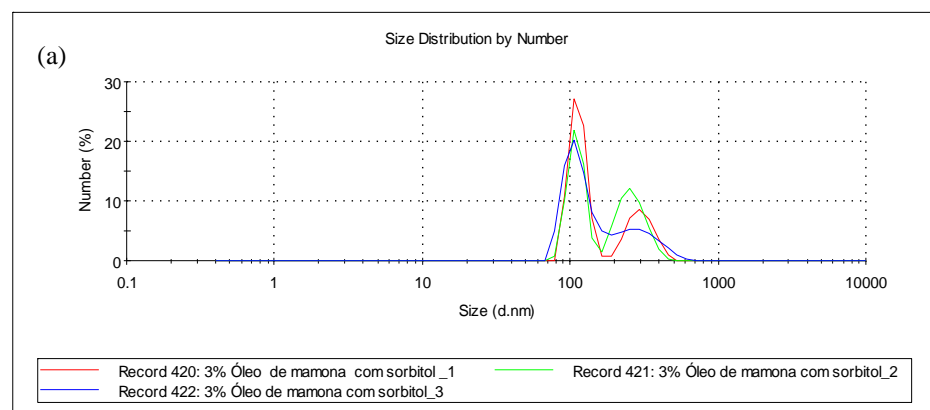


Figura 80: Diâmetro médio das partículas obtidas com a formulação 10 (4% de óleo de mamona PEG-40 e 8% de sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.



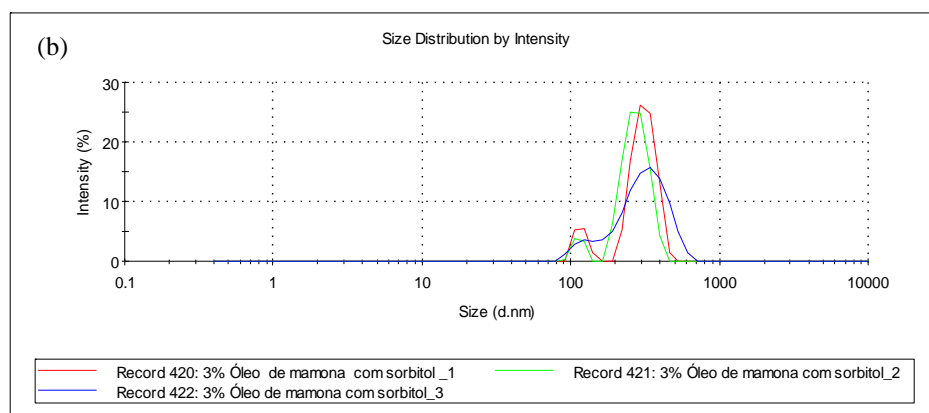


Figura 81: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com a formulação 9 (3% de óleo de mamona PEG-40 e 8% de sorbitol). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

5.2.5. Efeito do tipo de tensoativo

A Tabela 26 apresenta os resultados obtidos das formulações 8, e 11 a 15, onde avaliou-se o efeito do tipo de tensoativo sobre o diâmetro médio e polidispersidade das nanopartículas. Os resultados estão ilustrados pela Figura 82.

Pelos resultados obtidos pode-se verificar que para a obtenção de partículas com pequeno diâmetro e baixa polidispersidade é necessário a utilização de um tensoativo etoxilado com ponto de névoa elevado e específico, sendo o mais adequado o óleo de mamona PEG-40, provavelmente em função de sua estrutura química com alta etoxilação. Para os demais tensoativos quer seja etoxilados ou não etoxilados, embora sejam obtidas nanopartículas, o sistema apresenta alta polidispersidade.

Conforme mencionado no item 5.2.1. os tensoativos etoxilados apresentam variações de suas propriedades físico-químicas com a temperatura. Durante estas variações, a hidratação do surfactante é potencialmente alterada e assim a sua afinidade pela água, e instabilidades são criadas na rede da microemulsão, resultando em sua quebra para nanoemulsão (Anton et al, 2008). Pelo resfriamento extremamente rápido as emulsões preparadas na temperatura média de HLB, podem ser produzidas com tamanho de gota muito pequeno e com estreita distribuição (Solans et al, 2005; Izquierdo et al, 2005; Calderon et al, 2007; Anton et al, 2008; Ee et al, 2008).

Tabela 26: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas com as formulações 8, e 11 a 15, contendo os vários tipos de tensoativos.

Formulação	Tipo de Tensoativo	HLB	Ponto de névoa/ °C	Diâmetro médio/ nm	Polidispersidade
8	5% Óleo de mamona Peg-40	14-16	93	166,3 ± 0,1	0,109 ± 0,012
11	5% Polisorbato 60	14,9	> 100	73,11 ± 19,15	0,818 ± 0,013
12	20% Caprilil/ capril glucosídeo	13,6	Não apresenta	343,0 ± 90,5	0,871 ± 0,178
13	20% Decil glucosídeo	13,5	Não apresenta	732,3 ± 61,1	0,603 ± 0,330
14	5% Álcool ceto-estearílico 20 OE	15,4	89	62,15 ± 10,19	0,549 ± 0,054
15	5% Polgliceril-3-metilglicose diestearato	12	Não apresenta	72,60 ± 44,18	0,822 ± 0,190

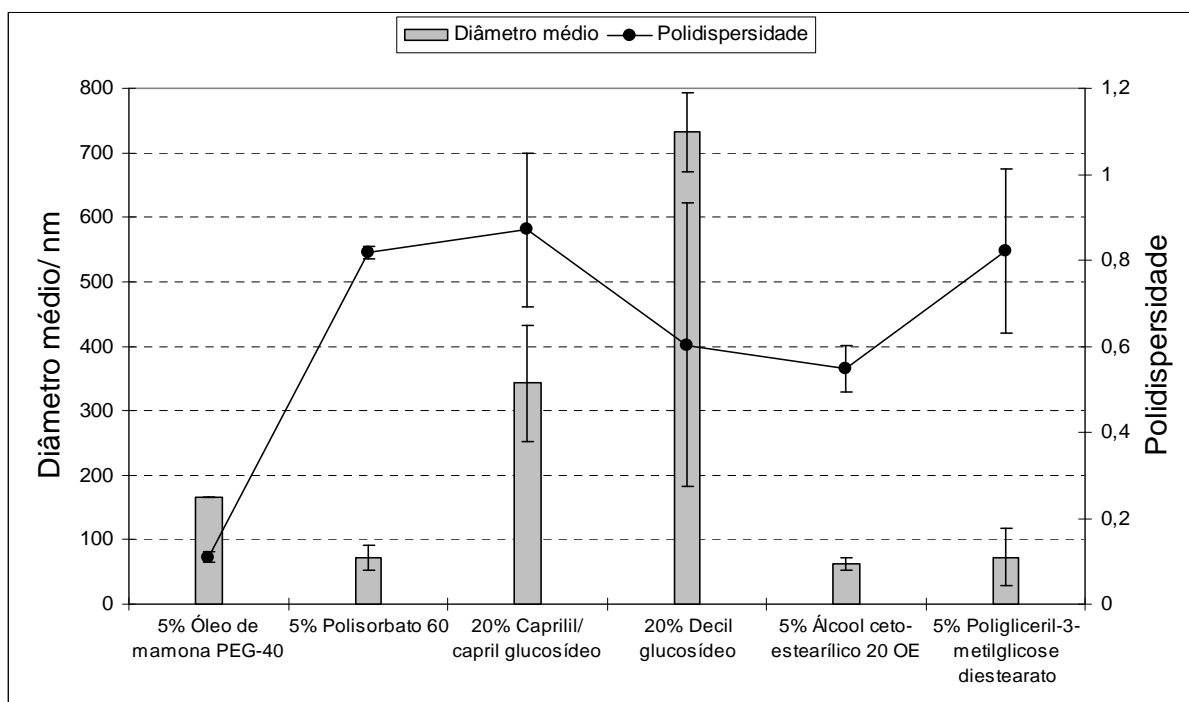


Figura 82: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função do tipo de tensoativo (Formulações 8, e 11 a 15).

5.2.6. Efeito da concentração de lipídios

A Tabela 33 (anexo II) apresenta os resultados obtidos dos testes realizados onde avaliou-se o efeito da concentração de lipídios (Formulações 3, 16 e 17), mantendo-se a proporção lipídios/ tensoativo em 2:1, sendo ilustrados pela Figura 83.

Pelos resultados obtidos pode-se concluir que é possível a obtenção de partículas com diâmetro de inferior a 100 nm e com polidispersidade de aproximadamente 0,150 com até 30% de lipídios na formulação. Com 40% de lipídios, embora obtém-se partículas com diâmetro inferior a 100 nm, a polidispersidade é alta.

Outro fato importante a ser considerado foi a influência do choque térmico no diâmetro e polidispersidade. Observa-se que a utilização de choque térmico conduz a partículas com menor diâmetro e com menor polidispersidade, pois impede que haja a coalescência das partículas.

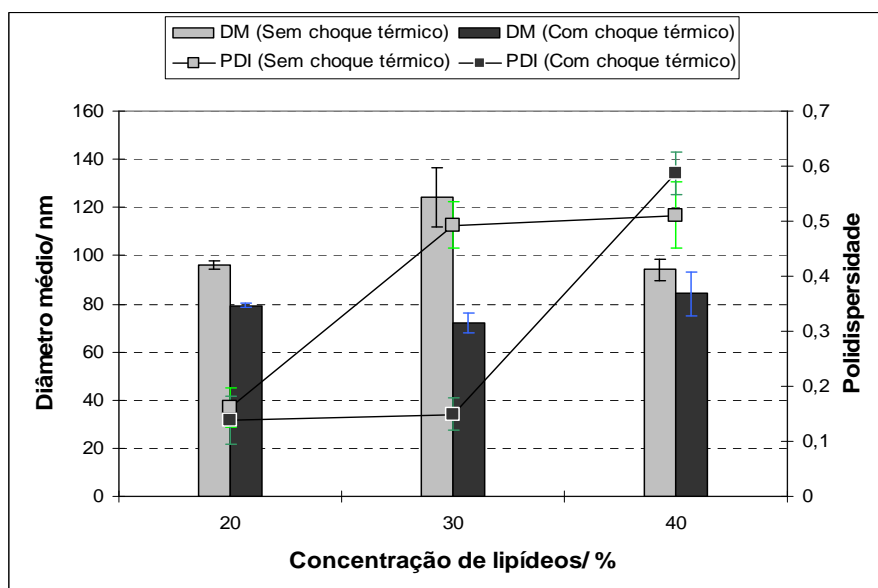


Figura 83: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade da dispersão de nanopartículas em função da concentração de lipídios (Formulações 3, 16 e 17).

Observa-se também que quando eleva-se a concentração de lipídios na formulação de 20% para 30 e 40%, nota-se a presença de mais de uma população de partículas, sendo evidente nas amostras sem choque térmico e na distribuição por intensidade (Figuras 85b e 87b). A utilização do choque térmico também possibilita a obtenção de uma única população de partículas para as formulações com 20% (Figuras 79 e 84), e 30% de lipídios (Figuras 85 e 86); porém o mesmo não ocorre para a formulação com 40% de lipídios (Figuras 87 e 88).

As Figuras 84 a 88, apresentam as distribuições por número e intensidade, das partículas obtidas com e sem choque térmico das formulações 3, 16 e 17.

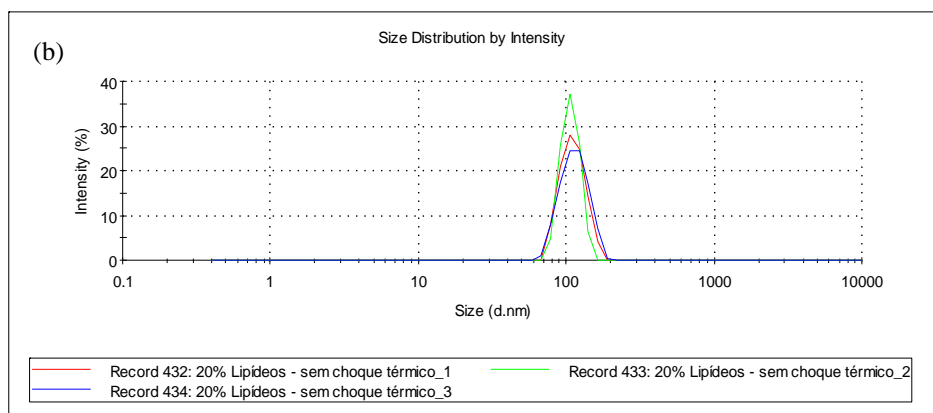
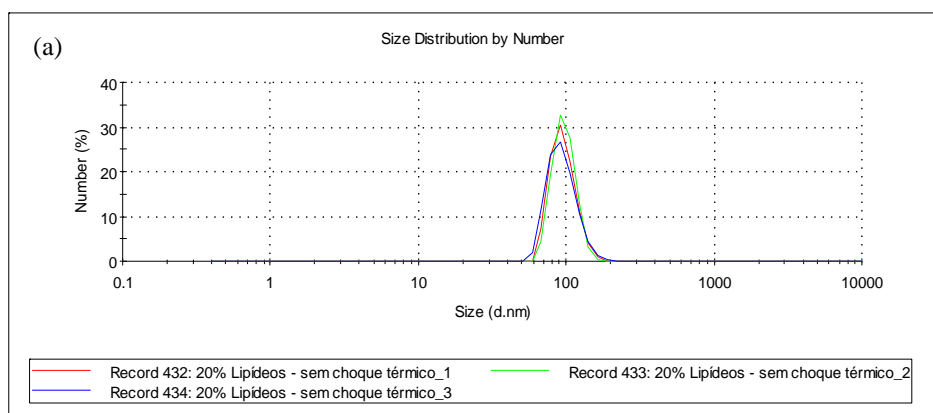
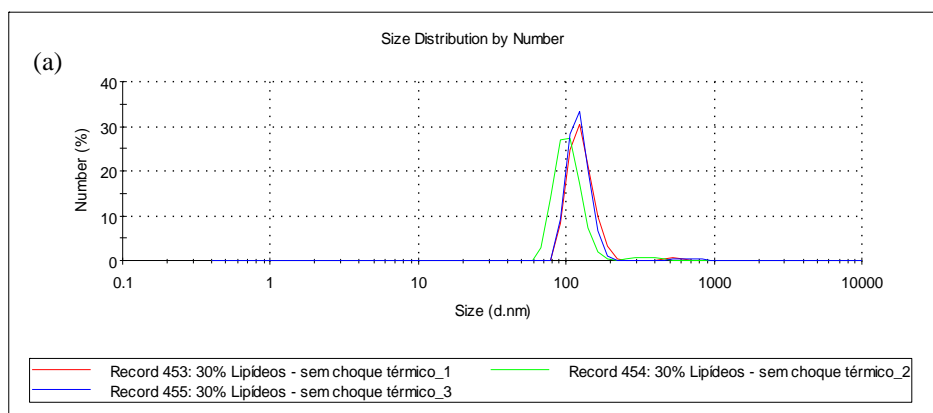


Figura 84: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas sem choque térmico, com a formulação 3 (20% de lipídios). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.



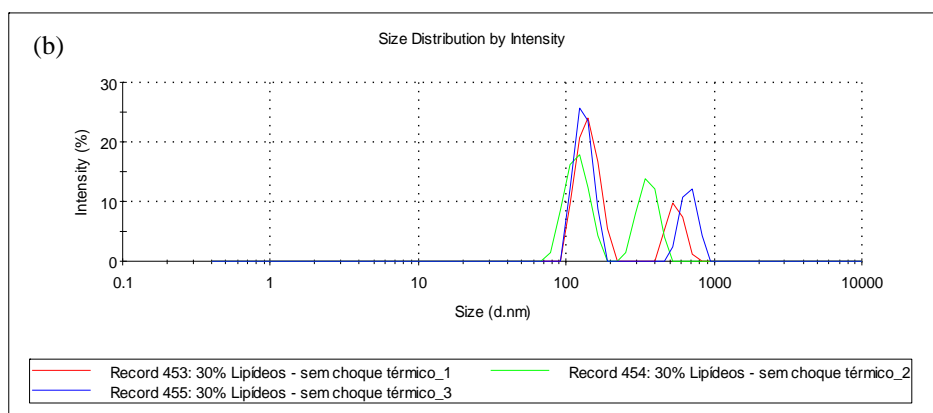


Figura 85: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas sem choque térmico, com a formulação 16 (30% de lipídios). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

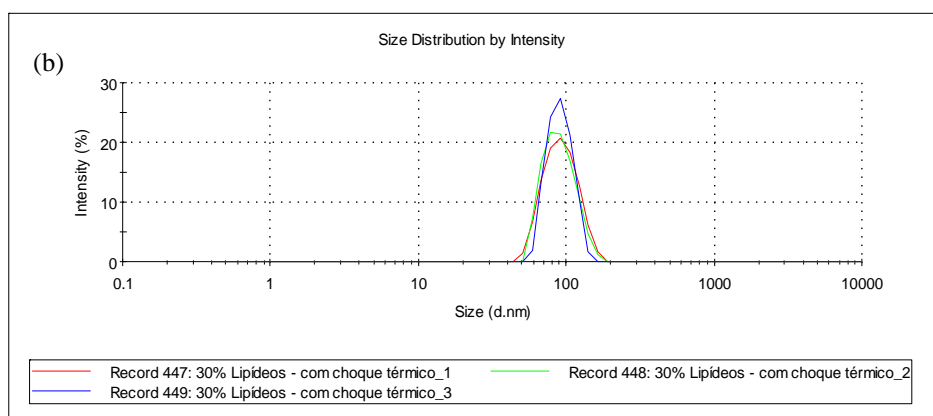
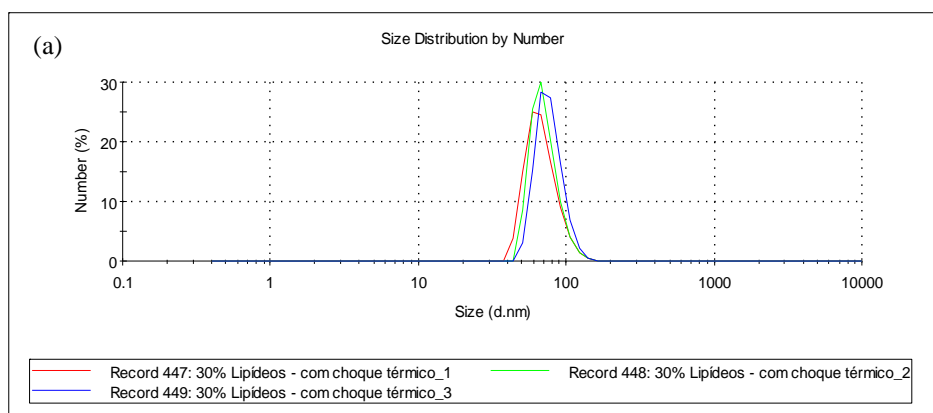


Figura 86: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com choque térmico, com a formulação 16 (30% de lipídios). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

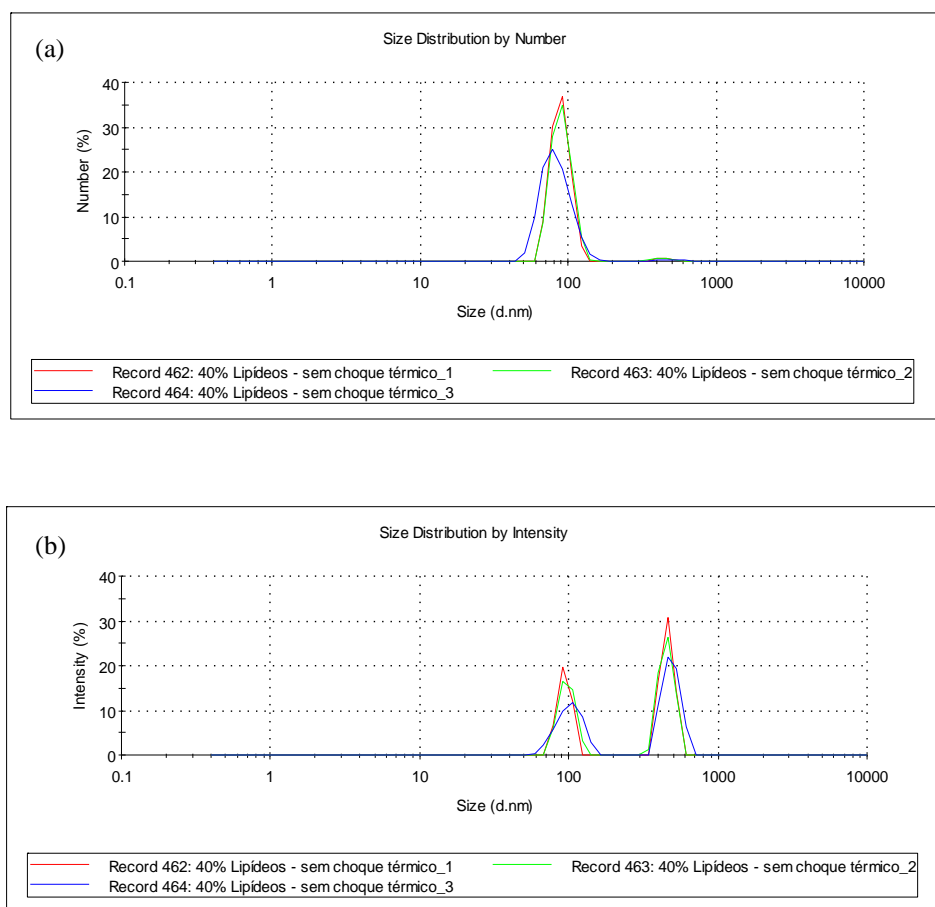
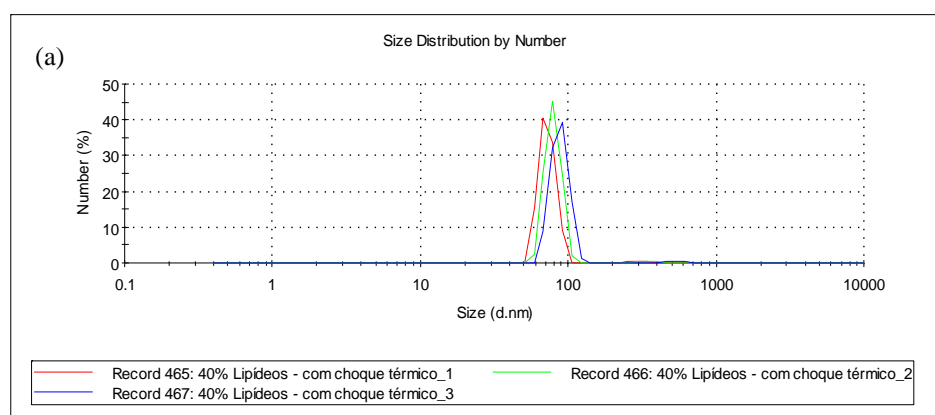


Figura 87: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas sem choque térmico, com a formulação 17 (40% de lipídios). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.



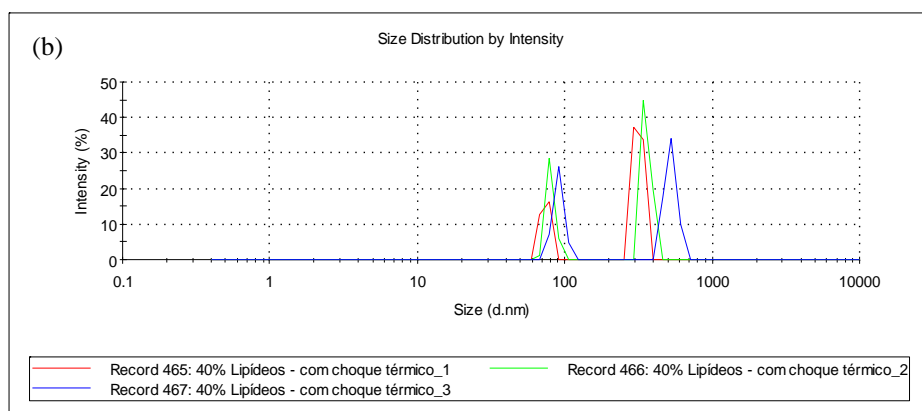


Figura 88: Diâmetro médio das nanopartículas obtidas com choque térmico, com a formulação 17 (40% de lipídios). (a) distribuição por número. (b) distribuição por intensidade.

5.2.7. Efeito da ordem de adição das fases aquosa e oleosa, no processo de emulsificação

A Tabela 34 (Anexo II) apresenta os resultados obtidos com a formulação 8, onde avaliou-se o efeito da forma com que adicionou-se as fases aquosa e oleosa no processo de emulsificação utilizado para a preparação das nanopartículas. A Figura 89 ilustra os resultados.

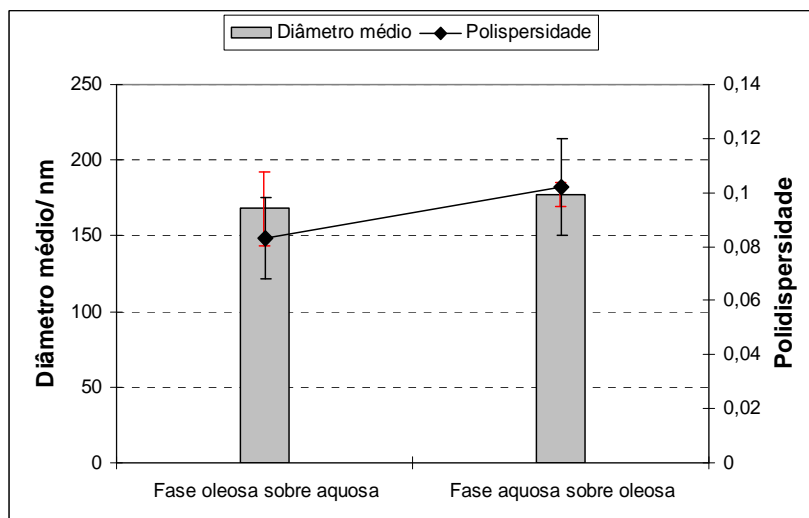


Figura 89: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas em função do processo de emulsificação utilizado. Formulação 8.

Pelos resultados obtidos pode-se verificar que a forma como o processo é realizado não afeta significativamente o diâmetro médio e a polidispersidade das partículas.

5.2.8. Efeito da incorporação na formulação da Lauroil lisina e quaternários de amônio

A Tabela 35 (anexo II) apresenta os resultados obtidos dos testes realizados onde avaliou-se o efeito da incorporação da Lauroil Lisina e quaternário de amônio (Formulações 3, e 18 a 25), sobre o diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta, sendo ilustrados pelas Figuras 90 e 91.

A inclusão da N-lauroil lisina na formulação não produziu variação significativa no diâmetro médio de partículas, cujo valor citou abaixo de 90 nm, tanto para a lauroil lisina dispersa na fase oleosa (Formulação 18) quanto para a lauroil lisina dispersa na fase aquosa (Formulação 22). Pode-se verificar também que o valor do potencial zeta também não foi alterado, sendo que para todos os casos foi negativo, próximo a -20 mV. O valor da polidispersidade está baixo para ambos os casos (<0,200).

Pode-se observar um aumento no diâmetro das partículas após a inclusão dos quaternários, assim como na polidispersidade, porém este valor encontra-se próximo ou inferior a 0,3. Este aumento no diâmetro e polidispersidade das partículas explica-se pelo fato que a presença do quaternário desloca a temperatura de inversão de fase para valores mais elevados, fazendo com que o processo de inversão não seja completo (vide Figura 67).

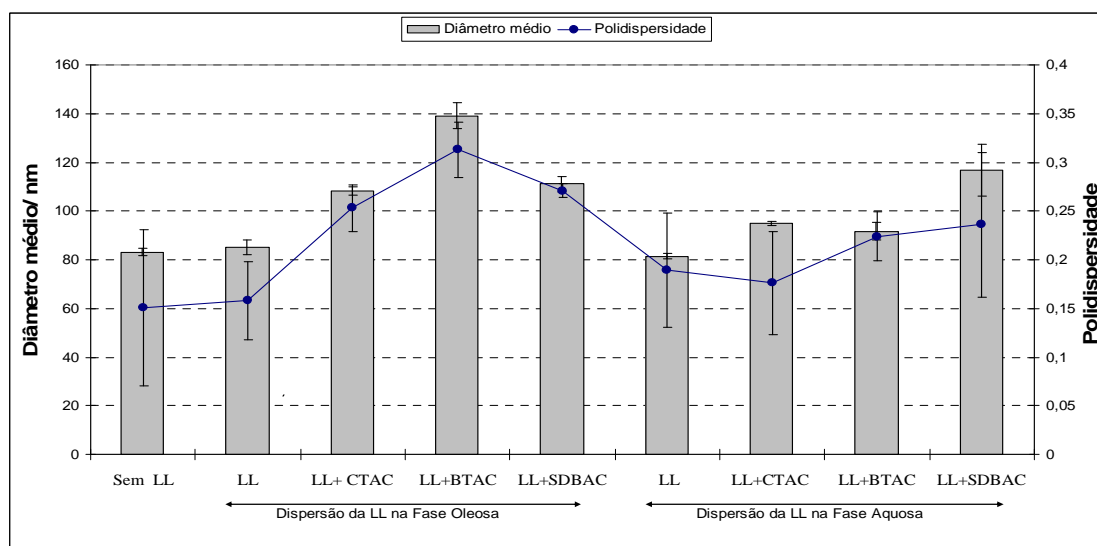


Figura 90: Variação do diâmetro médio e da polidispersidade das nanopartículas das formulações 3, e 18 a 25, contendo 1% de lauroil lisina e 1% de quaternários de amônio. LL:lauroil lisina; LL+CTAC: lauroil lisina e cloreto de cetrimônio; LL+BTAC: lauroil lisina e cloreto de behentrimônio; LL+SDBAC: lauroil lisina e cloreto de esteralcônio.

A inclusão dos quaternários de amônio promoveu a mudança no potencial zeta para um valor positivo, para todos os casos avaliados, sendo que o valor ficou mais positivo para as nanopartículas obtidas a partir da dispersão da lauroil lisina na fase oleosa (Formulações 18 a 21), provavelmente devido a presença de íons com carga negativa gerado no processo de neutralização da dispersão da lauroil lisina em solução alcalina.

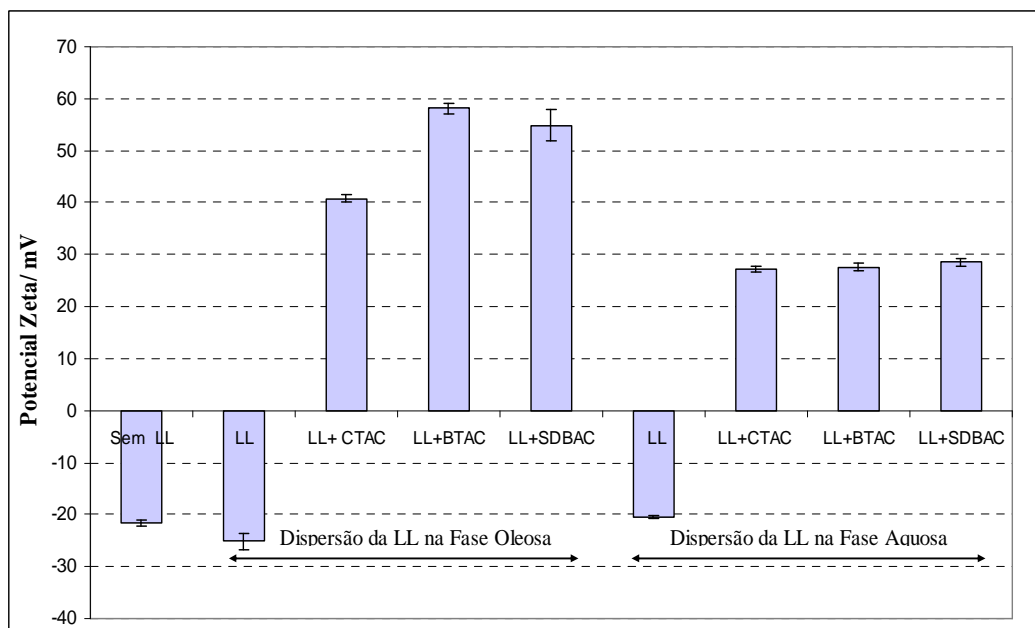


Figura 91: Variação do potencial zeta da dispersão de nanopartículas das formulações 3, e 18 a 25, contendo 1% de lauroil lisina e 1% de quaternários de amônio. LL:lauroil lisina; LL+CTAC: lauroil lisina e cloreto de cetrimônio; LL+BTAC: lauroil lisina e cloreto de behentrimônio; LL+SDBAC: lauroil lisina e cloreto de estercônio.

A Figura 92, apresenta os gráficos de potencial zeta para as formulações sem lauroil lisina e após inclusão da lauroil lisina na fase oleosa e aquosa (Formulações 3, 18 e 22), enquanto que a Figura 93, apresenta os resultados de potencial zeta das formulações 19 a 21, onde foi feita a dispersão da lauroil lisina na fase oleosa, na presença de CTAC, BTAC ou SDBAC. A Figura 94 apresenta os resultados de potencial zeta das formulações 23 a 25, onde foi feita a dispersão da lauroil lisina na fase aquosa, na presença de CTAC, BTAC ou SDBAC.

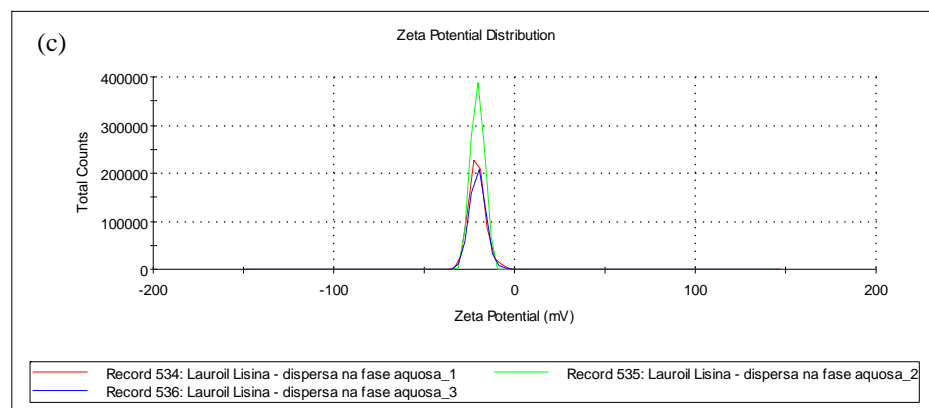
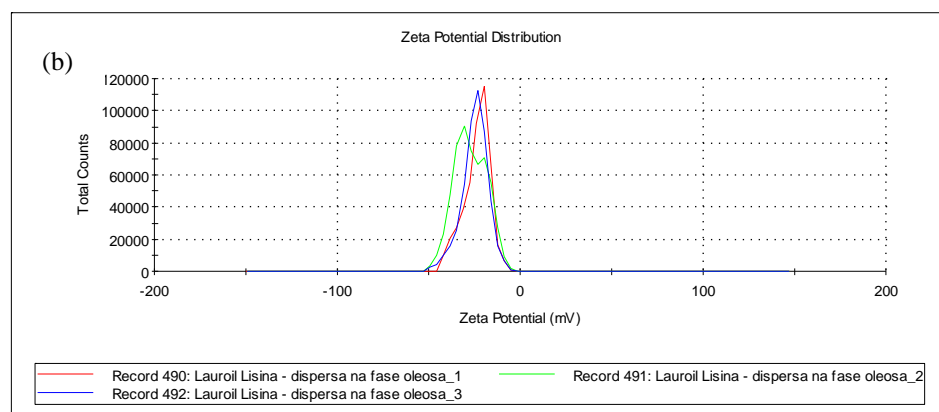
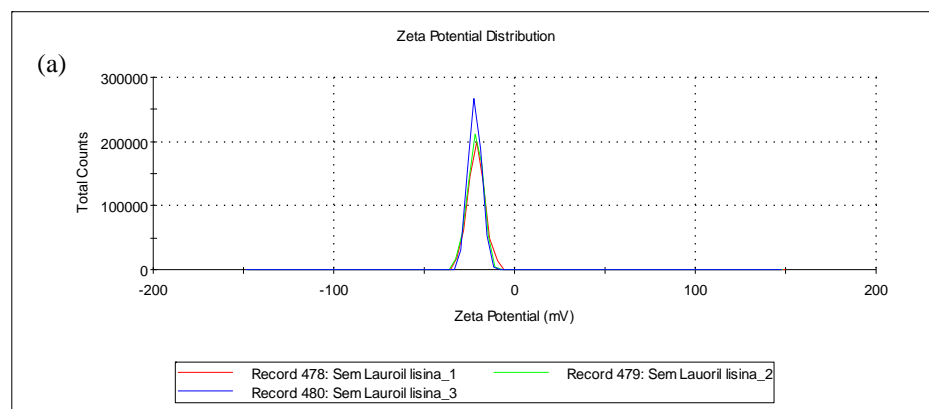


Figura 92: Potencial zeta das formulações 3, 18 e 22 (a: sem lauroil Lisina; b: lauroil lisina dispersa na fase oleosa, e c: lauroil lisina dispersa na fase aquosa).

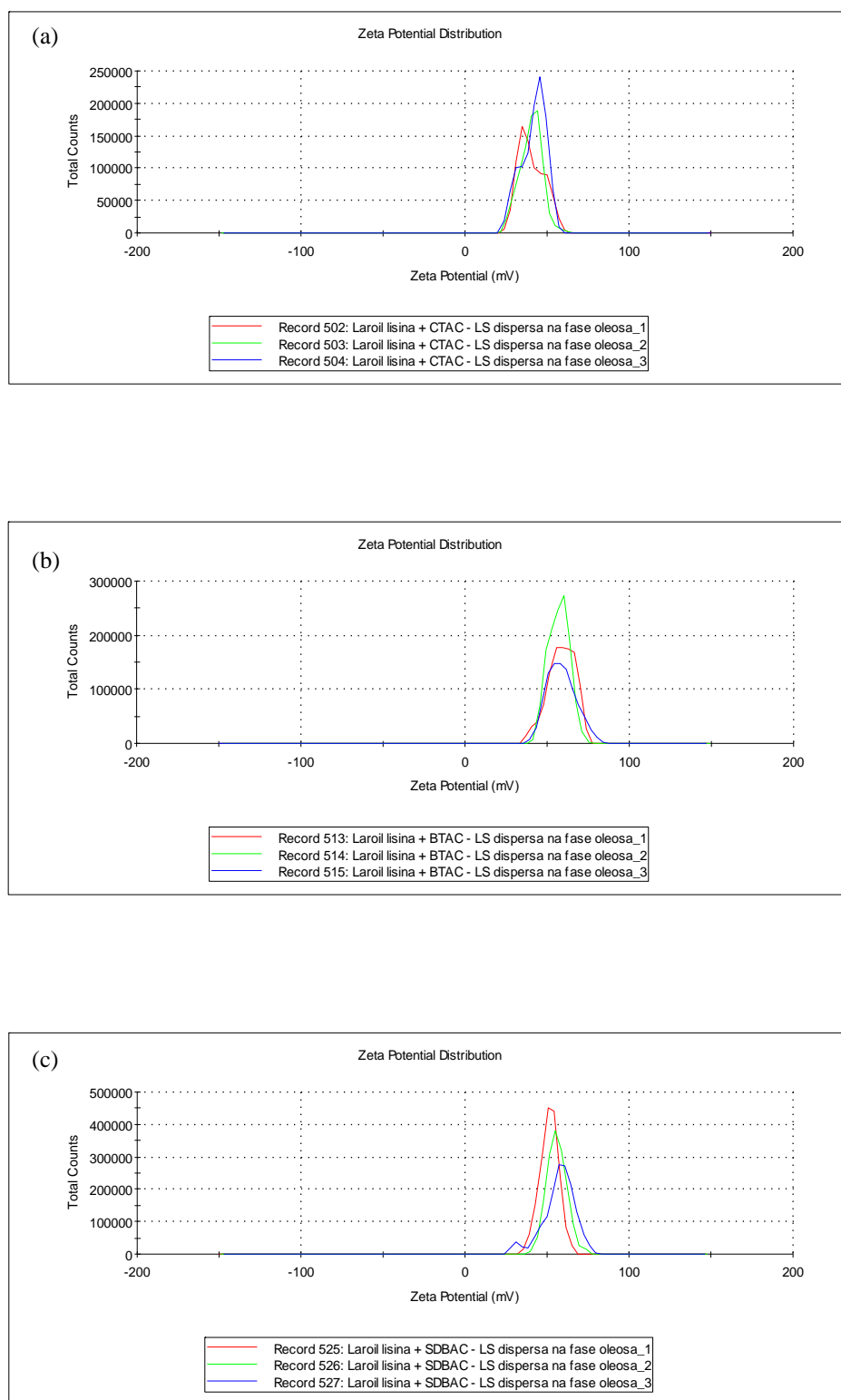


Figura 93: Potencial zeta das formulações 19 a 21, contendo lauroil lisina dispersa na fase oleosa e os quaternários de amônio (a: 1% CTAC, b: 1% BTAC e c: 1% SDBAC).

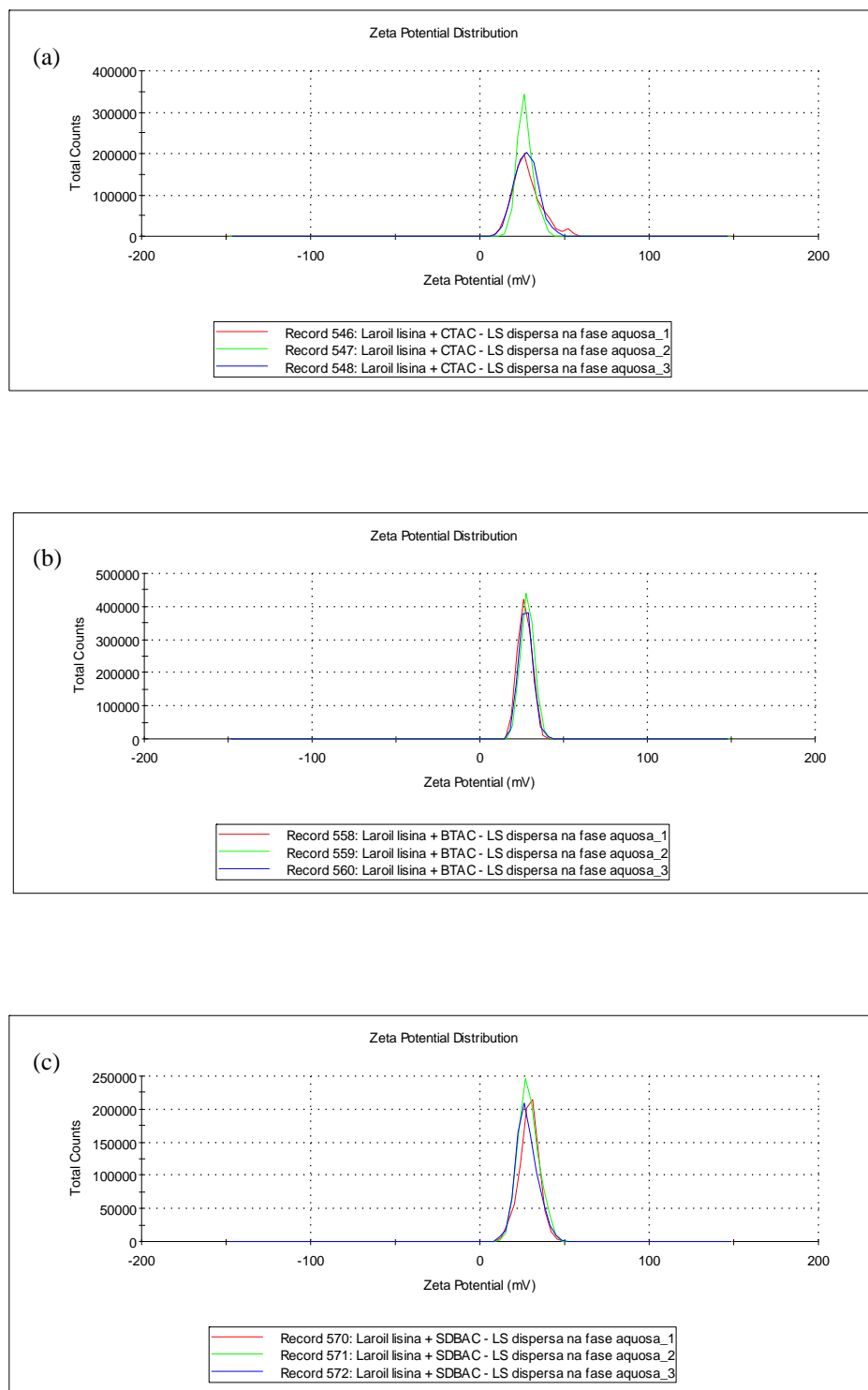


Figura 94: Potencial zeta das formulações 23 a 25, contendo lauroil lisina dispersa na fase aquosa alcalina e os quaternários de amônio (a: 1% CTAC, b: 1% BTAC e c: 1% SDBAC).

5.2.9. Avaliação da estabilidade das partículas compostas por lauroil lisina e quaternários de amônio

As Tabelas 36 a 38 (anexo II) apresentam os resultados do estudo de estabilidade de armazenamento após 120 dias, das partículas obtidas com as formulações 19, 20 e 21, contendo lauroil lisina dispersa na fase oleosa e os quaternários, CTAC, BTAC e SDBAC. As Figuras 95 a 100, ilustram os dados tabelados.

Pelos resultados obtidos, pode-se verificar que as partículas mantiveram-se estáveis em todas as condições avaliadas, para os três tipos de quaternários de amônio, dentro do período estudado (120 dias). Houve pequena variação do diâmetro médio das partículas, potencial zeta e da polidispersidade em relação ao valor inicial, porém esta variação não foi considerada como significativa.

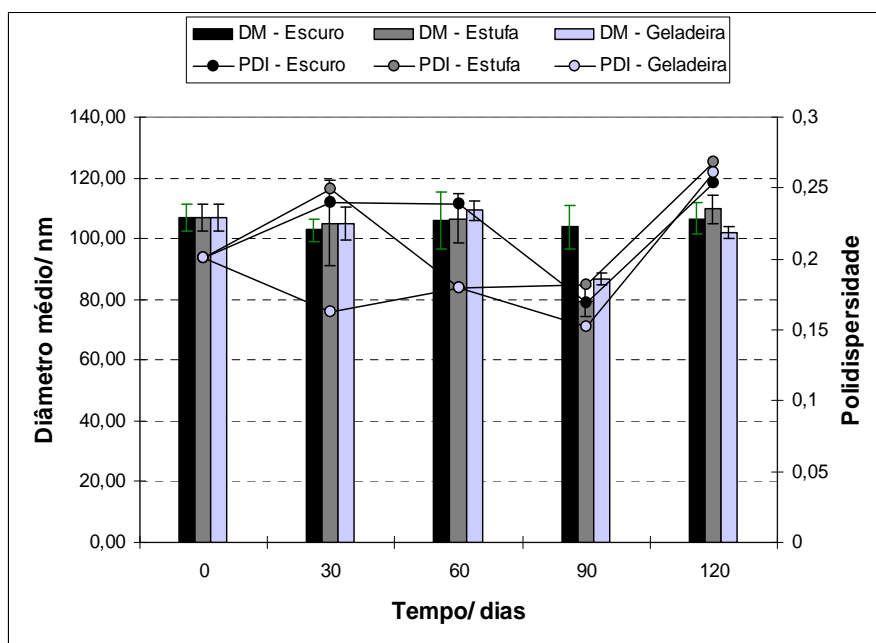


Figura 95: Resultados de estabilidade de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 19, contendo lauroil lisina e CTAC, após 120 dias.

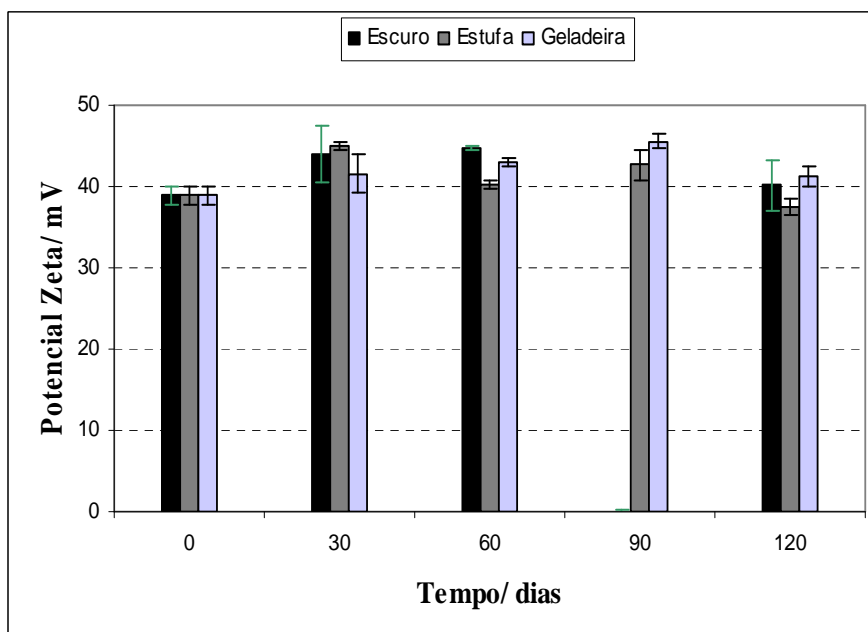


Figura 96: Resultados de estabilidade de potencial zeta (PZ) da dispersão de nanopartículas obtidas a partir da formulação 19, contendo lauroil lisina e CTAC, após 120 dias.

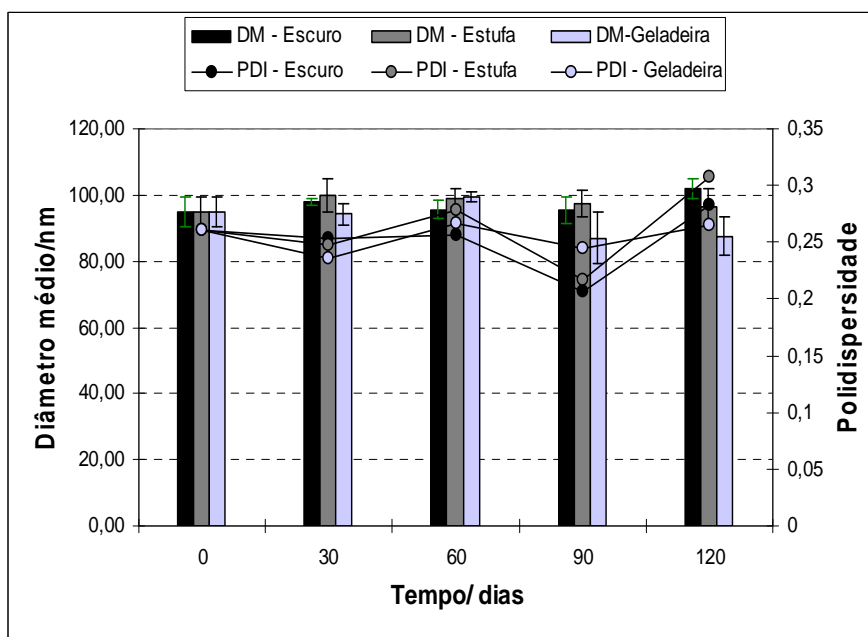


Figura 97: Resultados de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 20, contendo lauroil lisina e BTAC, após 120 dias.

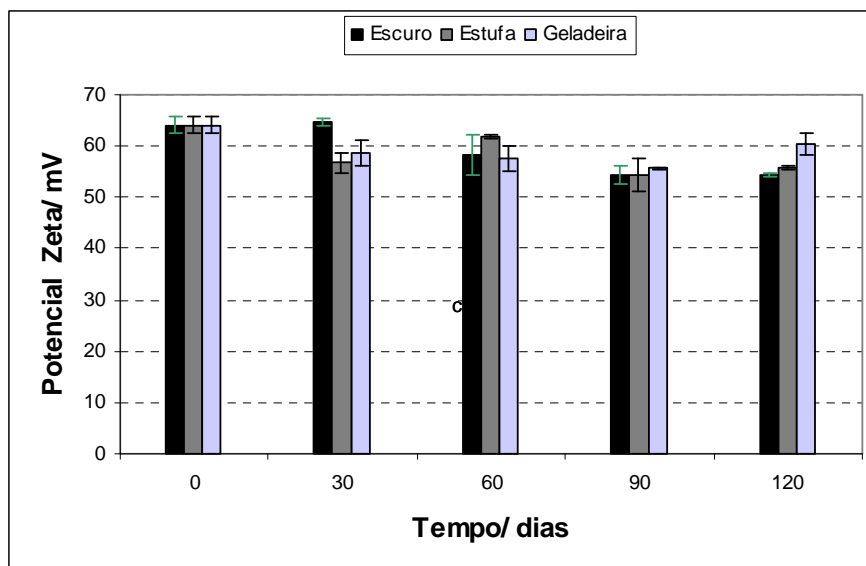


Figura 98: Resultados de potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 20, contendo lauroil lisina e BTAC, após 120 dias.

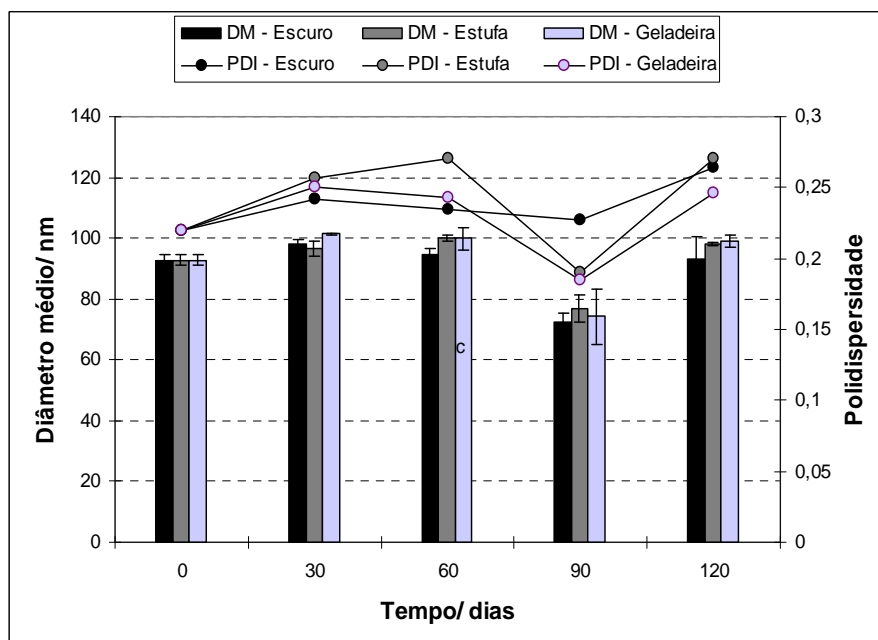


Figura 99: Resultados de estabilidade de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 21, contendo lauroil lisina e SDBAC, após 120 dias.

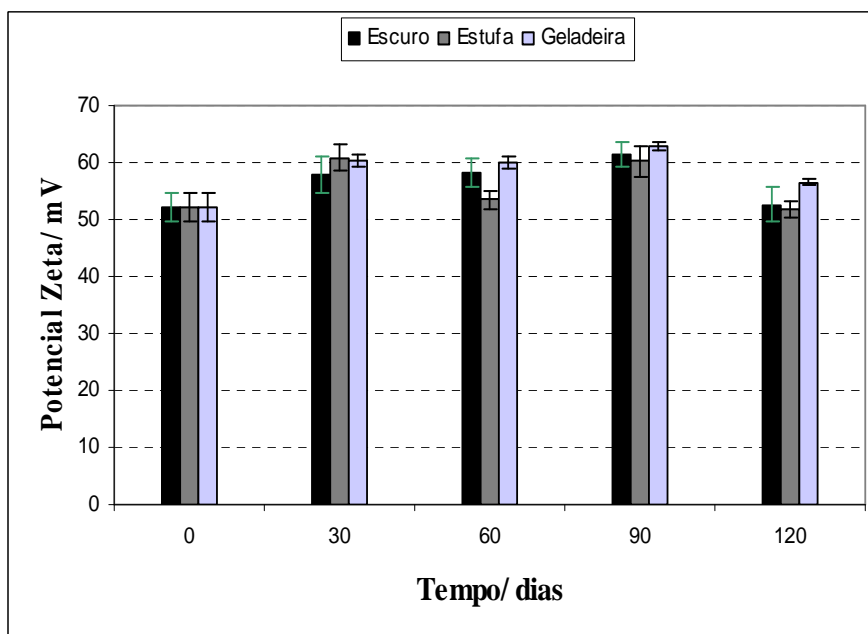


Figura 100: Resultados de estabilidade de potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 21, contendo lauroil lisina e SDBAC, após 120 dias.

5.2.10. Efeito da etapa de adição do quaternário de amônio no processo

A Tabela 39 (anexo II) apresenta os resultados obtidos para avaliação do efeito do processo de adição do quaternário de amônio sobre o diâmetro médio e polidispersidade das nanopartículas obtidas a partir da formulação 26 e 27, contendo 0,50% de N-lauoril lisina e 1,20% de CTAC. A Figura 101, ilustra os resultados.

Pelos resultados obtidos pode-se verificar que a inclusão do quaternário de amônio anterior a etapa de emulsificação produz partículas com diâmetro médio inferior a 100 nm, enquanto que a adição do quaternário após a formação das partículas produz partículas com diâmetro médio acima de 160 nm. A polidispersidade teve um ligeiro aumento com a inclusão dos quaternários de amônio, nos dois processos. Conforme foi explicado anteriormente a presença do quaternário na etapa de emulsificação desloca a temperatura de inversão de fase para valores mais elevados e influencia na reorganização das micelas e obtenção das partículas no processo de resfriamento. A presença de carga iônica impede a coalescência das partículas, por repulsão eletrostática, devido a inserção de cabeças iônicas nas micelas.

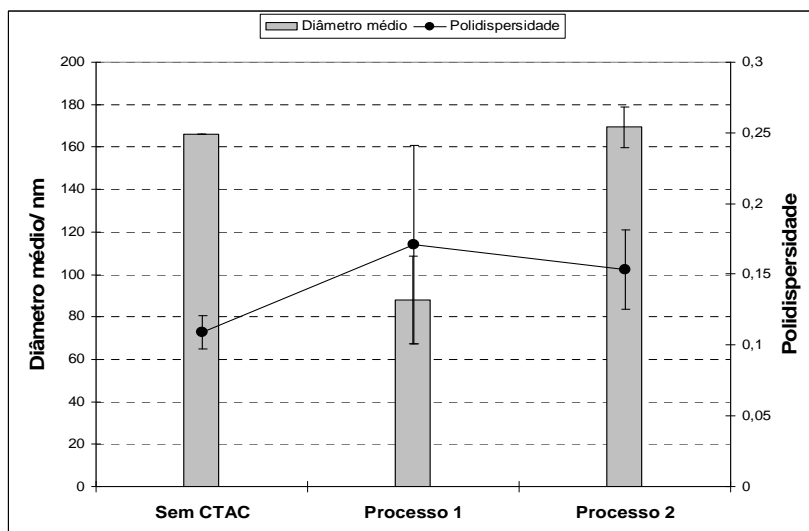


Figura 101: Resultados de diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas com as formulações 26 e 27, compostas por 0,50% de lauroil lisina e 1,20% de CTAC. Processo 1: emulsificação com a presença do CTAC. Processo 2: adição do CTAC, após a formação das partículas.

5.2.11. Efeito da concentração dos quaternários de amônio

A Tabela 40 (anexo II) apresenta os resultados onde avaliou-se o efeito de diferentes concentrações dos quaternários de amônio (formulações 28 a 42), sobre a polidispersidade, diâmetro médio e potencial zeta. As Figuras 102 e 103, ilustram os resultados obtidos.

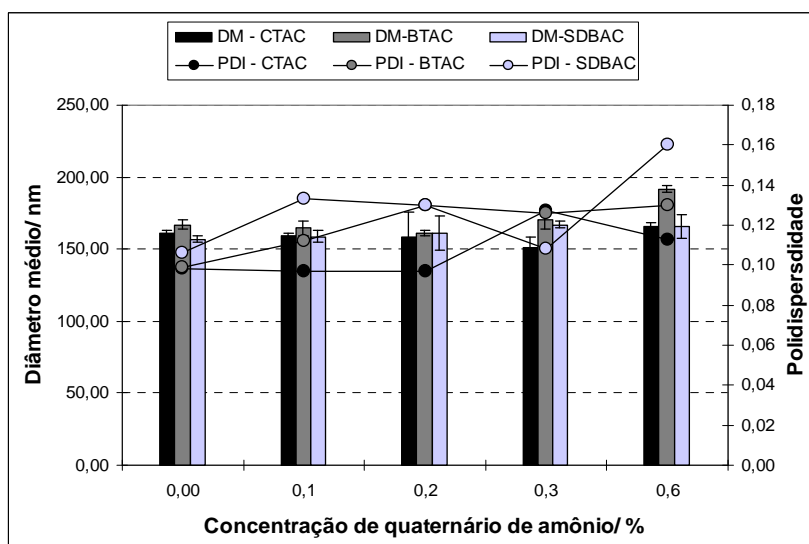


Figura 102: Efeito da concentração dos quaternários de amônios (CTAC, BTAC e SDBAC) sobre o diâmetro médio (DM) e polidispersidade (PDI) das nanopartículas obtidas a partir das formulações 28 a 42.

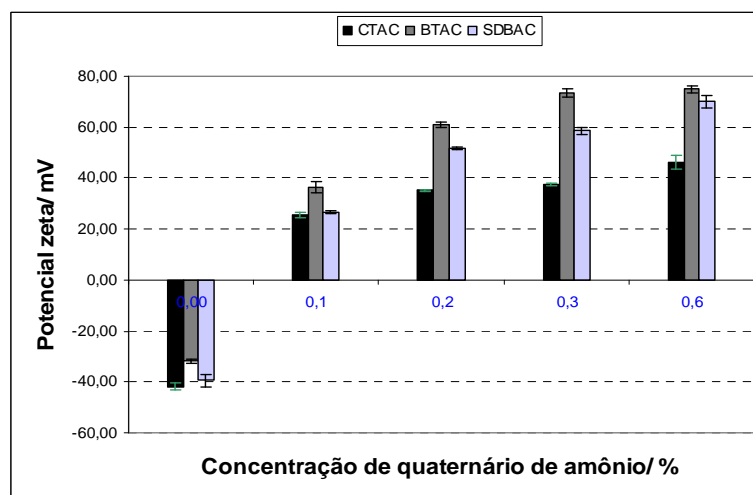


Figura 103: Efeito da concentração dos quaternários de amônios (CTAC, BTAC e SDBAC) no potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das formulações 28 a 42.

Pelos resultados obtidos pode-se verificar que a medida que aumenta-se a concentração do quaternário, aumenta-se o potencial zeta, sendo que a partir de 0,10% de concentração já é obtido potencial zeta positivo. A polidispersidade também variou pouco com o aumento da concentração do quaternário. Os quaternários BTAC e SDBAC influenciam mais sobre o potencial zeta do que o CTAC. Pode-se concluir também que os quaternários influenciam pouco no diâmetro médio das partículas.

5.2.12. Caracterização das nanopartículas

5.2.12.1. Comportamento térmico na fusão (DSC)

As Figuras 104, 105 e 106 apresentam o comportamento térmico, na fusão, da dispersão de nanopartículas com BTAC, CTAC e SDBAC, avaliados por DSC,

Nestes Termogramas pode-se verificar que as nanopartículas são sólidas uma vez que a fusão da partícula ocorre acima de 40 °C. Verifica-se também a presença do *Activeshine Amazon* e cera de caranúba, pela presença dos picos nas regiões próximo a 25 -30 °C e 80 °C, característicos destes lipídios. O pico da cera de carnaúba aparece próximo a 80 °C, o que confirma dados de literatura sobre esta cera, que apresenta um pico largo próximo a 83-90 °C (Hwang et al, 2004; Villalobos-Hernandez e Muller-Goymann, 2006; Albertini et al, 2009),

conforme os resultados obtidos no item 4.2.1.1. O pico do *Activeshine Amazon* aparece próximo a 25 °C.

Os outros componentes da dispersão das nanopartículas são: óleo de mamona PEG-40, sorbitol, BTAC, CTAC, SDBAC e N-lauroil lisina.

O sorbitol, cujo ponto de fusão situa-se próximo a 96-100 °C, de acordo com Siniti et al (1999), apresenta pico próximo de 95 °C, quando avaliado isoladamente, e deslocado para região próximo de 100 – 116 °C, quando avaliado na dispersão de partículas e com grande intensidade. O óleo de mamona PEG-40 apresenta ponto de fusão próximo a 10 °C, podendo-se estender até 20 °C (Schwarz e Pfeffer, 1997) e não aparece nos Termogramas. A N-lauroil lisina apresenta ponto de fusão (Ajinomoto, 2011), com decomposição, próximo a 230 °C e também não aparece no termograma. O BTAC, assim como o SDBAC apresenta fusão entre 60-65 °C (Mason Chemical, 2011; Richardson et al 2011) e em função de sua baixa concentração na dispersão, também não é possível a visualização do seu pico no termograma.

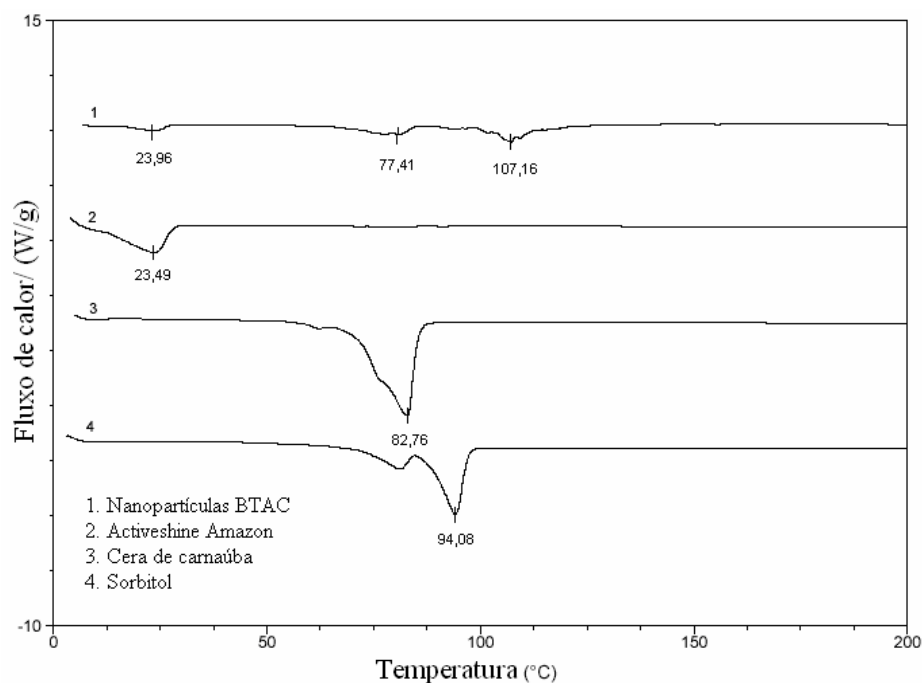


Figura 104: Termogramas (DSC) das nanopartículas com BTAC.

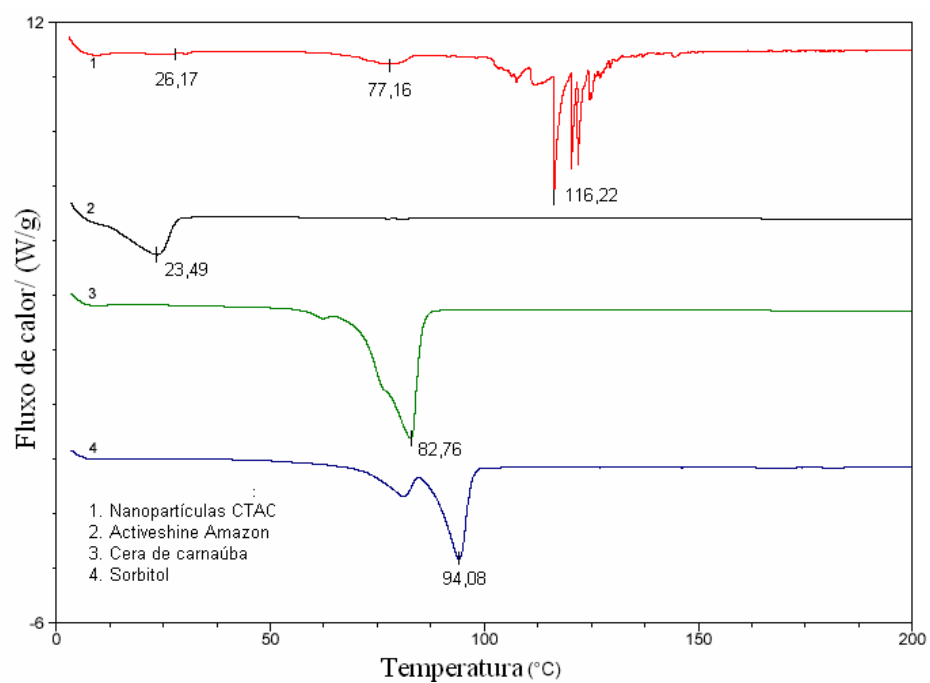


Figura 105: Termogramas (DSC) das nanopartículas com CTAC.

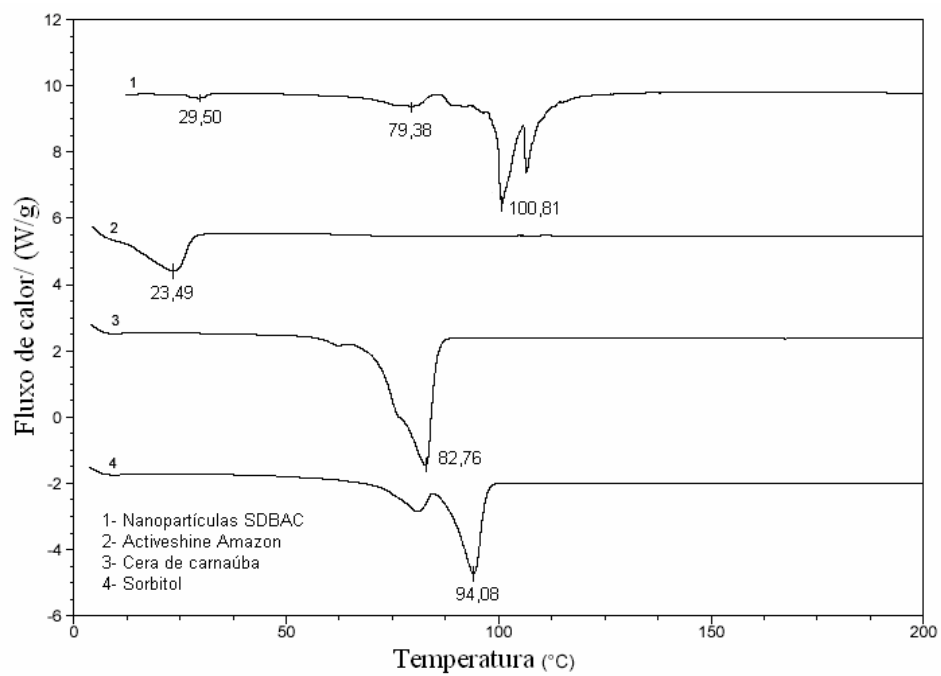


Figura 106: Termogramas (DSC) das nanopartículas com SDBAC.

6. CONCLUSÕES

De modo geral, os processos de *spray cooling* e emulsificação por inversão de fase por temperatura, utilizando ceras e triglicerídios naturais, produziu micro e nanopartículas lipídicas sólidas com propriedades físico-químicas que atendem aos requerimentos para aplicação capilar, e são potencialmente úteis para o desenvolvimento de formulações mais eficazes comparadas aos mesmos compostos na forma livre.

Os resultados obtidos com as preparações das micropartículas por *spray cooling*, permitem as seguintes conclusões:

- ✓ A incorporação do *Activeshine Amazon* nas misturas lipídicas ocorre com a utilização de alta concentração de cera (>70%).
- ✓ A utilização de concentrações de cera a partir de 30%, na admistura lipídica, são adequadas para a obtenção de partículas lipídicas sólidas, já que possuem ponto de fusão superior a 40 °C.
- ✓ As partículas obtidas a partir das misturas lipídicas entre *Activeshine Amazon* com cera de carnaúba, apresentaram diâmetro entre 50 e 320 µm, sendo que o processo, segue um modelo linear.
- ✓ As partículas obtidas a partir das misturas lipídicas de *Activeshine Amazon* com cera de silicone, apresentaram diâmetro entre 80 e 270 µm, sendo que o processo, segue um modelo quadrático.
- ✓ As partículas obtidas a partir das misturas lipídicas de *Activeshine Amazon* com parafina, apresentaram diâmetro entre 50 e 130 µm, sendo que o processo, segue um modelo quadrático.
- ✓ Para os três tipos de ceras, um menor diâmetro de partículas é obtido com a utilização de maior pressão do ar de atomização, assim como maior concentração da cera.
- ✓ O processo de formação de partículas por *spray cooling* é factível, sendo que permite a obtenção de micropartículas, com morfologia esférica, porém com larga distribuição de tamanho.

- ✓ As partículas obtidas a partir da cera de carnaúba, apresentaram menor aglomeração do pó.

A utilização da nano-emulsificação por inversão de fase por temperatura para obtenção de nanopartículas, permite as seguintes conclusões:

- ✓ O ponto da inversão de fase para obtenção das nanopartículas é influenciado pela concentração do sorbitol (poliálcool), quaternário de amônio, assim como a presença dos lipídios.
- ✓ A concentração do tensoativo apresenta uma importante influência sobre o diâmetro das partículas, sendo que para obtenção de menor diâmetro, é necessário a utilização de alta concentração do mesmo.
- ✓ A presença do sorbitol, um poliálcool, influencia na temperatura de inversão de fase do processo de obtenção das nanopartículas, deslocando a temperatura de inversão para valores menores, possibilitando a obtenção de partículas com menor polidispersidade e com pequeno diâmetro.
- ✓ Nanopartículas com diâmetro inferior a 100 nm podem ser obtidas com a utilização de 8% de sorbitol e de 10% do tensoativo etoxilado óleo de mamona PEG-40, enquanto que para a obtenção de partículas com diâmetro superior a 150 nm é necessário a utilização da metade da concentração do tensoativo etoxilado.
- ✓ Nanopartículas com pequeno diâmetro (160 nm) e com baixa polidispersidade (0,10) são obtidas utilizando-se um tensoativo etoxilado específico (óleo de mamona PEG-40), com alto valor HLB e alto valor de ponto de névoa.
- ✓ A utilização de choque térmico, conduz a partículas com menor diâmetro e menor polidispersidade.
- ✓ A forma de adição da fase aquosa sobre a oleosa ou vice-versa, no processo não afeta significativamente o diâmetro médio e a polidispersidade das partículas.
- ✓ A inclusão da N-Lauroil lisina na formulação, um aditivo catiônico, não produziu variação significativa no diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta das partículas, tanto

para dispersão na fase oleosa quanto para a dispersão na fase aquosa. Enquanto que a inclusão dos quaternários de amônio promoveu a mudança no potencial zeta para um valor positivo, para os três tipos avaliados, sendo que o valor ficou mais positivo para as nanopartículas obtidas a partir da dispersão da Lauroil lisina na fase oleosa.

✓ A inclusão do quaternário na etapa de emulsificação conduz a partículas com menor diâmetro, quando comparado com a inclusão do quaternário após a formação de partículas.

✓ O efeito da adição dos quaternários de amônio é bastante evidente na mudança do potencial zeta, e pouco significativo em relação à polidispersidade e ao diâmetro médio, sendo que os quaternários BTAC e SDBAC exercem uma maior influência sobre o potencial zeta do que o CTAC.

✓ As partículas mantiveram-se estáveis, com pouca variação no diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta, nas condições de armazenamento em escuro, estufa e geladeira por um período de 4 meses.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Estudos com tensoativos etoxilados de diferentes estruturas químicas com alto valor de HLB e alto ponto de névoa, de modo a relacionar as estruturas com as propriedades e mecanismo de formação das nanopartículas;
- ✓ Estudos com outros tipos de lipídios, para avaliar o efeito sobre a temperatura de inversão de fases, assim como na qualidade das nanopartículas;
- ✓ Estudos com outros tipos de aditivos não-iônicos, tais como mono e dissacarídeos, glicóis, bem como outros polialcoóis, de modo a verificar seus efeitos na modulação da condutividade e temperatura de inversão de fases, assim como na qualidade das nanopartículas;
- ✓ Estudos com encapsulação de ativos lipossolúveis, tais como corantes naturais, para finalidade de aplicação em tinturas, ou xampus tonalizantes;
- ✓ Estudos com encapsulação de ativos hidrossolúveis através da formação de complexos conjugados lipídeo-ativo;
- ✓ Testes de eficácia de brilho, colorimetria, efeito anti-estático, bem como outras propriedades que possam ser proporcionadas pela aplicação da dispersão das nanopartículas catiônicas em base cosmética capilar.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ajinomoto. Amihope LL. Disponível em: <http://www.ajinomoto.com.br/> 2008/index.php?area=produtos&sub=amihope. Acesso em 23/04/2011.

Albertini, A., Passerini, N., Pattarino, F., Rodriguez, L. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69, p. 348–357, 2008.

Albertini, B., Mezzena, M., Passerini, N., Rodriguez, L., Scallia, S. Evaluation of spray congealing as technique for the preparation of highly loaded solid lipid microparticles containing the sunscreen agent, avobenzone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 98, No. 8, p. 2759 - 2769, august, 2009.

Allen, T. Particle size measurement. Powder sampling and particle size measurement. Powder technologies series. Chapman & Hall. Volume 1. Fifth edition, p.427-431, 1996.

Alvarez, A.M.R., Rodriguez, M.L.G. Lipids in pharmaceutical and cosmetic preparations. *Grasas y Aceites*, Vol. 51, Fasc. 1-2, p. 74-96, 2000.

Anton, N., Gayet, P., Benoit, J.P., Saulnier, P. Nano-emulsions and Nanocapsules by the PIT method: An investigation on the role of the temperature cycling on the emulsion phase inversion. *International Journal of Pharmaceutics*, 344, p. 44-52, 2007.

Anton, N., Benoit, J.P., Saulnier, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates - A review. *Journal of Controlled Release*, 128, p.185–199, 2008.

Anthony, J., O`Lenick, Jr., Parkinson, K. Three-Dimensional HLB. *Cosmetics & Toiletries magazine*, No. 37, Vol. 111, October, 1996.

ANVISA. Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. Resolução RDC Nº. 211 de 14 de julho de 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/informes/2005/290805.htm>. Acesso em: 12/08/2011.

Ash, I., Ash, M. Handbook of green Chemicals. Synapse Information Resources, Inc. 1348p., 2004. Disponível em http://books.google.com.br/books?id=pKrBNbkE2c0C&printsec=frontcover&dq=inauthor:%22Irene+Ash%22&hl=pt-BR&ei=oP6yTc6mNaTh0QHazdWZAQ&as=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false. Acesso em 23/05/2011.

Azeredo, H.M.C. Encapsulação: aplicação à Tecnologia de Alimentos. *Alim. Nutr.* No. 1, vol. 16, p. 89-97, jan/mar 2005.

Barrera-Arellano, D., Polezel, M.A., Nogueira, C., Silva, C.R., Velazquez, M.D.C. Obtenção e utilização de uso do óleo de café verde (*Coffea arabica*) como potencializador da

proteção solar em produtos cosméticos, capilares e farmacêuticos. Patente No. PI0304263 4. 13/05/2003.

BASF. Informativo técnico do produto. Cremophor RH-40. MEM0307 13e-06. Maio, 2007. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/5681080/Cremophor-RH-40>. Acesso em 09/03/2011.

Bennet, H. Industrial Waxes, Natural and Synthetic Waxes, New York, Chemical Publishing Company, Vol 1, 324p., 1963.

Bhushan, B. Nanoscale characterization of human hair and hair conditioners. Progress in Materials Science, Volume 53, Issue 4, May, p. 585-710, 2008.

Bolduc, C., Shapiro, J. Hair Care Products: Waving, Straightening, Conditioning, and Coloring, Clinics in Dermatology, Vol.19, p. 431–436, 2001.

Boutin, O., Badens, E. Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO₂: Experimental design and products quality. Journal of Food Engineering, Vol. 92, p. 309 – 402, 2009.

Brandão, M.S.B. Substâncias tensoativas. Disponível em <http://pt.scribd.com/doc/43121903/Substancias-Anfifilicas>. Acessado em 09/04/2011.

Bruns, R.E., Neto, B.B., Scarmínio, I.S. Planejamento e Otimização de experimentos. Editora da Unicamp, Campinas, 2a. edição, 299p., 1995.

Bunjes, H., Unruh, T. Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, X-ray and neutron scattering. Advanced Drug Delivery Reviews, 59, p. 379-402, 2007.

Bunjes, H., Westesen, K., Koch, M.H.J. Crystalization tendency and polymorphic transitions in triglyceride nanoparticles. Int. J. Pharm., 129, p. 159-173, 1996.

Butler, H. e Poucher, W.A. Poucher's perfumes, cosmetic and soaps. Klumer academic publishers, 10 th edition, 782 p., 2000.

Calderon, F.L., Schmitt, V., Bibette, J. Emulsion Science: Basic Principles. Second edition, Springer publisher, 228p. , 2007. Disponível em: http://books.Google.com.br/books?id=-igD8etEA5EC&pg=PA11&lpg=PA11&dq=emulsion+science+calderon+inversion+phase&source=bl&ots=c5bheDmbnm&sig=e86W--SSmXd5tAgnUZVYU4nIorc&hl=pt-BR&ei=94u0TZyxKoX20gH9nv20CQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCAQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 19/04/2011.

Capuani. Disponível em: <http://www.capuani.com.br/produtos.asp?busca=aplicação&id=15>. Acesso em: 23/05/2011.

Cavalli, R., Marengo, E., Rodriguez, J., Gasco, M.R. Effects of some experimental factors on the production process of solid lipid nanoparticles. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 43 (2), p. 110-115, 1996.

Cavalli, R., Caputo, O., Marengo, E., Pattarino, F., Gasco, M.R. The effect of the components of microemulsions on both size and crystalline structure of solid lipid nanoparticles (SLN) containing a series of model molecules. *Pharmazie*, 53, p. 392-396, 1998.

Chambi, H.N.M., Alvim, L.D., Barrera-Arellano, D., Grosso, C.R.F. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: production, characterisation and release profiles. *Food Research International*, 41, p.229-236, 2008.

Chapman, D., The polymorphism of glycerides. *Chem. Rev.* 62, p. 433–456, 1962.

Chemyunion. Novas matérias-primas. Disponível em: [http://www. Cosmeticsonline.com.br/ct/dossie/nmp/chemyunion/mp_chemyunion.pdf](http://www.Cosmeticsonline.com.br/ct/dossie/nmp/chemyunion/mp_chemyunion.pdf). Acesso em 22/05/2009.

Chemyunion. Activeshine Amazon. Disponível em: [http://www.activebox. it/public/prodotti/8/Brochure.pdf](http://www.activebox.it/public/prodotti/8/Brochure.pdf). Acesso em 22/05/2011.

Christie, W.W . Triacylglycerols. Part 1: Structure and composition. Scottish Crop Research Institute. Disponível em: [http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/tag1/ index.htm](http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/tag1/index.htm). Acesso em 11/05/2009a.

Christie, W.W. Waxes: Structure, composition, occurrence and analysis. Scottish Crop Research Institute. Disponível em: [http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/ waxes/index.htm](http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/waxes/index.htm). Acesso em 11/05/2009b.

Comarplast. Informações técnicas da cera de carnaúba. Disponível em [http://www.comarplast.com.br/bra/index_01.php? menu=03&id_registro=3](http://www.comarplast.com.br/bra/index_01.php?menu=03&id_registro=3). Acesso em 22/05/2009.

Corn Products Brasil. Especificação Técnica do produto: Sorbitol RD-750. 2011.

Cortesi, R., Esposito, E., Luca, H., Nastruzzi, C. Production of lipospheres as carriers for bioactive compounds. *Biomaterials*, 23, p. 2283-2294, 2002.

Cosméticos & Perfumes. A Amazônia e a Cosmética, Nº 23, Fevereiro/Março, Editora Insumos Ltda, p. 26-49, 2003a.

Cosméticos & Perfumes. A Amazônia e a Cosmética (Parte 2), Nº 24, Abril/Maio, Nº 24, p. 18-27, 2003b.

Cosméticos & Perfumes. Encapsulação, , Vol. VI, nº 38, p. 46-53, 2005.

Das, S., Chaudhury, A. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. American Association of Pharmaceutical Scientists, AAPS Pharmscitech, 12, (1), p. 62-76, 2011.

Dawber, R. Hair: Its structure and response to cosmetic preparations. Clinics in Dermatology, Vol. 14, p. 105-112, 1996.

Degussa Goldschmidt. Personal Care. Catalogue of products. Disponível em: http://www.in-cosmetics.com/ExhibitorLibrary/489/PC_Lieferprogr_07_1-83_1.pdf. Acesso em 23/04/2011.

Dobre, T., Stroescu, M., Stoica, A., Draghici, E., Antohe, N. Inulin Extraction and Encapsulation. Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timisoara), Volume 53(67), 1-2, p. 215-217, 2008.

Dominguez, E., Heredia, A. Waxes: a forgotten topic in lipid teaching. Biochemical education, 26, p. 315-316, 1998.

Dow Corning. Informações técnicas do produto. Disponível em <http://www2.dowcorning.com/DataFiles/090007c88022f89c.pdf>. Acesso em 22/05/2009.

Duarte, L.C., Juchem, P.L., Pulz, G.M., Brum, T.M.M., Chodur, N., Liccardo, A., Fischer, A. C., Acaun, R.B. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: exemplos brasileiros. Pesquisas em Geociências, 30 (2), p. 3-15, 2003.

Ee, S.L., Duan, X., Liew, J., Nguyen, Q.D. Droplet size and stability of nano-emulsions produced by the temperature phase inversion method. Chemical Engineering Journal, Vol. 140, p. 626-631, 2008.

Eldem, T., Speiser, P., Hincal, A. Optimization of spray-dried and -congealed lipid micropellets and characterization of their surface morphology by scanning electron microscopy. Pharm. Res, Vol 8 (1), p. 47-54, 1991.

Emas, M., Nyqvist, H. Methods of studying aging and stabilization of spray-congealed solid dispersions with carnauba wax. Microcalorimetric investigation. International Journal of Pharmaceutics, 197, p. 117-127, 2000.

Evonik. Tego Care 450: Emulsifier for the formulation of O/W creams and lotions. Disponível em: <http://www.chemiplast.hu/specik/TEGO%20CARE%20450.pdf>. Acesso em 23/05/2011.

Favaro-Trindade, C.S., Pinho, S.C., Rocha, G.A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios, Braz. J. Food Technol., v. 11, n.2, p. 103-112, abr./jun. 2008.

Fessi, H.C., Devissaguet, J.P., Puisieux, F., Thies, C. Process for the preparation of dispersible colloidal systems of a substance in the form of nanoparticles. US Patent 5,118,528, 1992.

Franquilino, E. Ativos Amazônicos. Cosmetics & Toiletries, Março, Tecnopress Editora e Publicidade Ltda, p. 18-53, 2006.

Freitas, C., Müller, R.H. Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticles (SLNTM) dispersions. Int. J. Pharm., 168, p. 221-229, 1998.

Fronza, T., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R, Teixeira, H. F. Nanocosméticos: em direção ao estabelecimento de marcos regulatórios. Gráfica da UFGRS, 61p., 2007.

Gasco, M.R. Method for producing solid lipid microspheres having a narrow size distribution. US Patent: 5250236, 1993.

Gasco, M.R. Solid Lipid nanospheres from warm micro-emulsions. Pharm. Tech. Eur. 9, p. 52-58, 1997.

Giavarini, C., Pochetti, F. Characterization of Petroleum Products by DSC Analysis. Journal of Thermal Analysis, Vol. 5, p. 83-94, 1973.

Goldenstein, H. Apostila de Microscopia Ótica. Disponível em: http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1_multipart_xF8FF_6_Microscopia_otica.pdf. Acesso em 07/03/2011.

Griffin, W.C. Classification of surface active agents by HLB. J. Soc. Cosmet. Chem., 1, p. 311-326, 1949.

Grollier, J.F., Peritz, L., Rellet, I. Cosmetic composition for the hair contains a film forming polymer and a silicone incorporated in a wax microdispersion and a cosmetic treatment using the same. US Patent No. 5194260, 1991.

Guterres, S.S., Alves, M.P., Pohlmann, A.R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. Drug Target Insights, 2, p.147 – 157, 2007.

Gutiérrez, J.M., González, C., Maestro, A., Sole, Pey, C.M.; Nolla, J. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 13, p. 245-251, 2008.

Guy, V., Luc, N.M., Alain, L. Cosmetic composition for the hair containing a wax microdispersion and a process for treating the hair using the composition. US Patent No.5306488, 1994.

Harrison, S., Sinclair, R. Hair colouring, permanent styling and hair structure. Journal of Cosmetic Dermatology, 2, p. 180–185, 2004.

Hernandez, M., Mercier-Fresnel, M.M., Manual de Cosmetologia, 3a. edição, Livraria e editora Revinter Ltda, 353 p., 1999.

Herzog, B. Formulation of UV absorbers by incorporation in solid lipid nanoparticles. US Patent No. 7147841, 2006.

Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J.E.; Benoit, J.P, A Novel phase inversion-based process for the preparation of lipid nanocarriers. *Pharmaceutical Research*, Vol. 19, No. 06, p. 875-880, June, 2002.

Hincal, A.A., Kas, S.H. Preparation of micropellets by spray congealing. Em: Ghebre-Sellassie, I. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, volume 65: Multiparticulate Oral Drug Delivery, Marcel Dekker, USA, p. 17- 34, 1994.

Holmberg, K., Jonsson, B., Kromberg, B., Lindman, B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, 2nd edition, John Wiley & Sons Ltd., 562 p., 2003.

Hwang, K.T., Weller, C.L., Cuppett, S.L., Hanna, M. Changes in composition and thermal transition temperatures of grain sorghum wax during storage, *Industrial Crops and Products*, 19, p. 125-132, 2004.

ICI Americas Inc.. Apostila técnica. The HLB system, a time-saving guide to emulsifier selection. March, 1980. Disponível em: <http://www.firp.ula.ve/a450.html>. Acesso em 08/03/2011.

Igartua, M., Saulnier, P., Heurtault, B., Pech, B., Proust, J.E., Pedraz, J.L., Benoit, J.P. Development and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with magnetite. *Int. J. Pharm.*, 233, p. 149-157, 2002.

Ilic, I., Dreu, R., Burjak, M., Homar, M., Kerc, J., Srcic, S. Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology. *International Journal of Pharmaceutics*, 381, p. 176-183, 2009.

Instituto Racine. Apostila de curso intensivo. Turma 27. Cosmetologia express: desenvolvimento de produtos cosméticos. Aula 05: Aspectos técnicos e práticos para o desenvolvimento de shampoos, condicionadores e sabonetes líquidos (teoria e prática). RCN Comercial e editora Ltda, São Paulo, Março, 2005a.

Instituto Racine. Apostila de curso intensivo. Turma 27. Cosmetologia express: desenvolvimento de produtos cosméticos. Aula 02: Matérias-primas cosméticas: propriedades e características que justificam suas aplicações, RCN Comercial e editora Ltda, São Paulo, Março, 2005b.

Israelachvili, J. *Intermolecular & Surface Forces*. Second edition. Academic Press, 450 p., 1991.

Izquierdo, P., Feng, J., Esquena, J., Tadros, T., Dederen, C., Garcia, M.J., Azemar, N., Solans, C. The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the pit method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 285, p. 388-394, 2005.

Jannin, V., Musakhanin, J., Marchaud, D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, p.734-746, 2008.

Jenning, V., Gohla, S. Comparison of wax and glyceride solid lipid nanoparticles (SLN®). *International Journal of Pharmaceutics*, 196, p. 219-222, 2000.

Johnson, D.H., *Hair and Hair Care*. Marcel Dekker Inc, 369 p., 1997.

KCI Limited. Disponível em: <http://kciltld.com>. Acesso em 23/05/2011.

Lambent Technologies. Polysorbates & Sorbitan Esters. Disponível em http://www.petroferm.com/lambent/home.asp?Category_ID=476. Acesso em: 23/05/2011.

Leonel, A.J. Produção e caracterização de partículas lipídicas constituídas por ácidos graxos, gordura vegetal hidrogenada e lecitina na encapsulação de um composto hidrofílico de baixa massa molar. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, abril, 2008.

Lim, S.J., Kim, C.K. Formulation parameters determining the physicochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid. *Int. J. Pharm.* 24, p. 135-146, 2002.

Lima, C.G., Vilela, A.F.G., Silva, A.A.S., Piannovski, A.R., Silva, K.K., Carvalho, V.F.M., De Muis, C.R., Machado, S.R.P., Ferrari, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*). *Rev. Bras. Farm.*, 89(3), p. 239-245, 2008.

Lodge, R.A., Bhushan, B. Wetting Properties of Human Hair by Means of Dynamic Contact Angle Measurement. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 102, p. 5255-5265, 2006.

Longo, V.M., Monteiro, V.F., Pinheiro, A.S., Terci, D., Vasconcelos, J.S., Paskocimas, C.A., Leite, E.R., Longo, E., Varela, J.A. Charge density alterations in human hair fibers: an investigation using electrostatic force microscopy. *International Journal of Cosmetic Science*, 28, p. 95-101, 2006.

Lonza. Geogard 221 preservative. Disponível em: http://www.lonza.com/group/en/products_services/products/catalog_new.ParSys.0007.File0.tmp?path=product_search_files/db_files/USAD-16762.pdf. Acesso em: 23/05/2011a.

Lonza. Carsoquat SDQ85. Disponível em: http://www.canadacolors.com/canada_colors/docs/spec/293753.pdf. Acesso em: 23/05/2011b.

Maestro, A., Solè, I., Gonzáles, C., Solans, C., Gutiérrez, J.M. Influence of the behavior on the properties of ionic nanoemulsions prepared by the phase inversion composition method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 327, p. 433-439, 2008.

Maliska, A.M. Apostila de Microscopia Eletrônica de Varredura. UFSC. Departamento de engenharia mecânica (EMC). Laboratório de materiais (LABMAT). Laboratório de caracterização microestrutural e análises de imagens (LCMAI). Disponível em: www.materiais.ufsc.br. Acesso em 09/02/2011.

Malvern. Zetasizer Nano Series User Manual. Man031171. Issue 2.2. March, 2005.

Marchi, E.C.S., Castro, D.M. Revisão de Microscopia. Ministério da Educação e do Desporto. Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura. 2005. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/6729026/Microscopia-basica2>. Acesso em 07/03/2011.

Maschke, A., Becker, C., Eyrich, D., Kiermaier, J., Blunk, T. and Gopferich, A. Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, p. 175 - 187, 2007.

Mason Chemical. Maquat SC18. Disponível em http://www.maquat.com/graphics/bul_sc18a.pdf. Acesso em: 23/05/2011.

Matero, A., Mattsson, A., Svensson, M. Alkyl Polyglucosides as Hydrotropes. *Journal of Surfactants and Detergents*, Vol. 1, No. 4, October, p. 485-489, 1998.

Mehnert, W., Mader, K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Reviews*, 47, p. 165-196, 2001.

Moddarese, M., Tamburic, S., Williams, S., Jones, S.A., Zhao, Y., Brown, M.B. Effects of lipid nanocarriers on the performance of topical vehicles in vivo. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 8, p. 136-143, 2009.

Mona, M.A., Mottaleb, A., Dirk N. D., Lamprecht, A. In vitro drug release mechanism from lipid nanocapsules (LNC). *International Journal of Pharmaceutics*, 390, p. 208-213, 2010.

Morante, N. Formulating sticks for various cosmetic applications. Disponível em: <http://www.specialchem4cosmetics.com/services/articles.aspx?id=2497&lr=fbc0s0731&li=3821>. Acesso em 15/02/2009.

Müller, R.H., Lucks, J.S. European Patent 0605497, 1996.

Müller, R.H., Dingler, A., The next generation after the liposomes: solid lipid nanoparticles (SLNTM, LipopearsTM) as dermal carrier in cosmetics, *Eurocosmetics* 7/8, p. 19-26, 1998.

Müller, R.H., Mader, K., Gohla, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics*, 50, p. 161-177, 2000.

Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, Suppl. 1, S131 – S155, 2002a.

Müller, R.H., Radtke, M.; Wissing, S. A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 242, p.121–128, 2002b.

Müller, R. H., Souto, E. B. Lipid nanoparticles (SLN and NLC) for drug delivery, in nanoparticles for pharmaceutical applications. Capítulo 5. American Scientific Publishers, p.103 – 122, 2005.

Müller, R.H. , Petersen R.D., Hommoss, A., Pardeike, J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, p.522- 530, 2007.

Na, G.C., Yuan, B.O., Stevens, H.J.Jr., Weekley, B.S., Rajagopalan, N. Cloud point of noionic surfactants: modulation with pharmaceutical excipients. *Pharmaceutical Research*, vol.16, No.04, p.562 – 568, 1999.

Niebauer, M.F., Lane, B. S. Personal care composition containing microemulsified wax particles. US Application 20080020057, 2006.

Nitschke, M., Pastore, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. *Quim. Nova*, Vol. 25, 5, p. 772-776, 2002.

Olbrich, C. Gebner, A. kayser, O., Muller, R.H. Lipid-drug conjugate (LDC) nanoparticle as novel carrier system for the hydrophilic antitrypanosomal drug diminazenediacetu- rate. *J. Target*, 10 (5), p. 387-396, 2002.

Oxiten. Technical bulletin. Ultrol C/ ULtrol CE. Ethoxylated Fatty Alcohols. Disponível em <http://www.oxiten.com.br/aplicacoes/mercados/doc/documento.asp? =04140 46 26474751CDDDDFFJ995I8C0K9&idioma=IN&r=.pdf>. Acesso em 23/05/2011.

Paiva, P. , Pires, A. M., Serra, O. A. A low-cost ultrasonic spray dryer to produce spherical microparticles from polymeric matrices. *Química Nova*, Vol. 30, No. 7, p.1744-1746, 2007.

Pardeike, J., Hommoss, A., Müller R. H., Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*, volume 366, p. 170 - 184, 2009.

Pardeike, J., Kay Schwabea, K., Müller, R. H. Influence of nanostructured lipid carriers (NLC) on the physical properties of the Cutanova Nanorepair Q10 cream and the in vivo skin hydration effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 396, p. 166 - 173, 2010.

Passerini, N., Qi, S., Albertini, B., Grassi, M., Rodriguez, L., Craig, D.Q.M. Solid lipid microparticles produced by spray congealing: influence of the atomizer on microparticle characteristics and mathematical modeling of the drug release. *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 99, Issue 2, p. 916-931. 2010.

Patidar, A., Thakur, D.S., Kumar, P., Verma, J. A Review on novel lipid based nanocarriers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 2, Issue 4, p. 30-35, 2010.

Pepe, R.C., Wenninger, J.A., Mewen, G.N. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*. The cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association. Vol. 4, Ninth edition, , p. 2829 – 2920, 2002.

Pey, C.M., Maestro, A., Solé, I., González, C., Solans, C., Gutiérrez, J.M. Optimization of nano-emulsions prepared by low-energy emulsification methods at constant temperature using a factorial design study. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 288, p. 144-150, 2006.

Pinto, C.M. Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa. Formas farmacêuticas tópicas contendo nanopartículas lipídicas. 2010. Disponível em https://bdigital.ufp.pt/dspace/bitstream/10284/1606/1/MONO_13704.pdf. Acesso em 09/05/2011.

Pfau, A., Hossel, P., Vogt, S., Sander, R., Schrepp, W. The interaction of cationic polymers with human hair. *Macromol. Symp*, 126, p. 241-252, 1997.

Polezel, M.A. Use of Fats derived from palm trees to increase dermal hydration. Patente US 7045154 B2. May 16, 2006.

Polezel, M.A., Nogueira, C., Silva, C.R., Velazquez, M.D.C., Barrera-Arellano, D. Utilização de composição de óleos e gorduras de palmeiras brasileiras, em especial de palmeiras do gênero *Astrocaryum* e *Attalea* (anteriormente designando *Orbignya*) destinadas a melhorar as condições sensoriais dos cabelos danificados por processos químicos e ao aumentod do brilho capilar. Patente No. PI 0503239-3 A. 25/03/2008.

Puri, D., Bhandari, A., Sharma, P., Choudhary D. Lipid Nanoparticles (SLN, NLC): A Novel approach for cosmetic and dermal pharmaceutical. *Journal of Global Pharma Technology*, 2(5), p. 1-15, 2010.

Quintanar-Guerrero, D., Fessi, H., Alléman, E., Doelker, E. Pseudolatex preparation using a novel emulsion-diffusion process involving direct displacement of partially-water-miscible solvents by distillation. *Int. J. Pharm.*, 188, p. 155-164, 1999.

Quintanar-Guerrero, D., Tamayo-Esquivel, D., Ganem-Quintanar, A., Allémann, E., Doelker, E. Adaptation and optimization of the emulsification-diffusion technique to prepare lipidic nanospheres. *Eur. J. Pharm. Sci.* 26, p. 211-218, 2005.

Rawat, M., Singh, D., Saraf, S. Nanocarriers: Promising vehicle for bioactive drugs. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 9, p.1790-1798, 2006.

Ren, S., Park M.J., Sah, H., Lee, B.J., Beom-Jin Lee. Effect of pharmaceutical excipients on aqueous stability of rabeprazole sodium. *International Journal of Pharmaceutics*, 350, p. 197–204, 2008.

Richardson, M.C., Kim, J., Ho, D., Snyder, C.R., D'souza, N.A., Holmes, G. A.Organofunctionalized Montmorillonite/Epoxy Nanocomposites: The effect of interlayer cation distribution on mechanical properties. *Polymer composites*, p. 67 – 78, DOI 10.1002/pc, 2011.

Robbins, C.R., *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, Fourth edition, Springer- Verlag, New york, 482p., 2002.

Rodriguez, L., Passerini, N., Cavallari, C., Cini, M., Sancin, P., Fini, A. Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing process. *International Journal of Pharmaceutics*, 183, p. 133-143, 1999.

Rodrigues, M.I., Iemma, A.F. *Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos. Uma estratégia sequencial de planejamentos*. Casa do Pão editora, 325p., 2005.

Rosen, M.J. *Surfactants and interfacial phenomena*. John Wiley and Sons Inc., third edition, 444p., 2004. Disponível em: http://books.google.com.br/books?id=dZJiK-JQyokC&printsec=frontcover&dq=inauthor:22Milton+J.+Rosen%22&hl=pt-BR&ei=JjW2TaCEFMXo0gG-Ow&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 25/04/2011.

Sadurni, N., Solans, C., Azemar, N., Garcia-Celma, M.J. Studies on the formation of O/W nano-emulsion by low-energy emulsification method, suitable for pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, p. 438-445, 2005.

Sagar, G.H., Arunagirinathan, M.A., Bellare, J.R. Self-assembled surfactant nano-structures important in drug delivery: a review. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol.45, February, p. 133-159, 2007.

Santos, F.K.G., Alves, J.V.A., Dantas, T.N.C.; Neto, A.A.D.; Dutra Jr, T.V.; Neto, E.L.B. Determinação da concentração micelar crítica de tensoativos obtidos a partir de óleos vegetais para uso na recuperação avançada de petróleo. 4^o PDPETRO, Campinas, SP 2.1.72–1, 21-24 de Outubro, 2007.

Saw, L.K., Brooks B.W., Carpenter, K.J., Keight, D.V. Different dispersion regions during the phase inversion of an ionomeric polymer–water system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 257, p. 163 - 172, 2003.

Schlossman, M. *The Chemistry and Manufacture of Cosmetics. Volume I, Basic Science*, Third edition. Allured Publishing Corporation, p. 255-284, 2000.

Schwarz, E., Pfeffer, S. Use of subambient DSC for liquid and semi solid dosage forms. *Pharmaceutical product development and quality control. Journal of Thermal Analysis*, vol. 48, p. 557-567, 1997.

SEPPIC. Montanox 60: Technical brochure. 2011a.

SEPPIC. Oramix CG110: Technical brochure. 2011b.

SEPPIC. Oramix NS10: Technical brochure. 2011c.

Siniti, M., Jabrane, S., Létoffé, J.M. Study of the respective binary phase diagrams of sorbitol with mannitol, maltitol and water. *Thermochimica Acta*, 325, p.171-180, 1999.

Shinoda, K., Arai, H. The Correlation between Phase Inversion Temperature in Emulsion and Cloud Point in Solution of Nonionic Emulsifier. *The Journal of Physical Chemistry*, Volume 68, Number 12, p. 3485-3490, December, 1964.

Shinoda, K., Saito, H. The effect of temperature on the phase equilibria and the types of dispersion of the ternary system composed of water, cyclohexane, and nonionic surfactant. *J. Colloid Interface Sci.* 26, p. 70-74, 1968.

Shinoda, k. The comparison between the PIT system and the HLB-value system to emulsifier selection. *Proceedings of the 5th International congress of surface activity*, Barcelona, Spain, Vol. 2, p. 275-283, 1969.

Shpigleman, A., Portnaya, I., Ramon, O., Livney, Y.D. Saccharide-structure effects on poly N-isopropylacrylamide phase transition in aqueous media; reflections on protein stability. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, Vol. 46, p. 2307–2318, 2008.

Silva, M.F., Silva, L.B.L., Neto, P.J.R., Santana, D.P., Wanderley, A.G., Dias, P.C., Carvalho, J.E. Óleo de Babaçu: novo adjuvante lipofílico. *Cosmetics & Toiletries*, Vol. 12, p. 65-68, set/out 2000.

Sinha, V. R., Srivastava, S., Goel, H., Jindal, V. Solid lipid nanoparticles (SLN'S) – trends and implications in drug targeting. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences*, Vol. 1, p. 212-238, 2010.

Siekmann, B., Westesen, K. Investigation on solid lipid nanoparticle prepared by precipitation in o/w emulsion. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 43, p. 104-109, 1996.

Sjoblom, J. Emulsions and Emulsions Stability: Surfactants Science Series/ 61. Taylor & Francis LLC, Chapter 5, p. 227 – 244, 1996. Disponível em [http:// www .crcnet ba se .com /doi /pdf/10.1201/9781420028089.ch5](http://www.crcnetbase.com/doi/pdf/10.1201/9781420028089.ch5). Acesso em 16/04/2011.

Sjostrom, B., Bergenstahl, B. Preparation of submicron drug particles in lecithin-stabilized o/w emulsion. I. Model studies of the precipitation of cholesteryl acetate. Int. J. Pharm., 88, p. 53-62, 1992.

Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., Garcia-Celma, M.J. Nano-emulsions. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 10, p. 102-110, 2005.

Souto, E.M.B. SLN and NLC for topical delivery of antifungals. Dissertação de Doutorado. Universidade Livre de Berlin, p. 25 - 46, 2005.

Souto, E. B, Müller, R. H. Lipid nanoparticles (SLN and NLC) for drug delivery, em Nanoparticles for pharmaceutical applications, Capítulo 5. American Scientific Publishers, p. 103 – 121, 2005.

Souto, E.B., Müller, R.H. Cosmetic features and applications of lipid nanoparticles (SLN[®], NLC[®]). International Journal of Cosmetic Science, Vol. 30, p. 157-165, 2008.

Speiser, P. Lipidnanopellets als trager system fur arzeneimittel zur perolen anwendung. European Patent, EP 0167825, 1990.

Suave, J., Dall'agnol, E.C., Pezzin, A.P.T., Silva, D.A.K., Meier, M.M., Soldi, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal, v. 7, n. 2, p. 12-20, dezembro, 2006.

Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J.; Solans, C. Formation and stability of nano-emulsions. Advances in Colloid and Interface Science, 108-109, p. 303-318, 2004.

Torre, C.L., Bhushan, B., Yang, J.Z., Torgerson, P.M. Nanotribological effects of silicone type, silicone deposition level, and surfactant type on human hair using atomic force microscopy. J. Cosmet. Sci., 57, January/February, p. 37-56, 2006.

Trotta , M., Debernardi, F., Caputo, O. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. Int. J. Pharm., 257, p. 153-160, 2003.

Truter, E.V. Wool wax. Cleaver-Hume Press Ltd., p. 323 – 327, 1956.

Valkonic, V. Human hair. Fundamentals and methods for measurement of elemental composition. CRC Press. Volume I, p. 3-51, 2000.

Vandenburg, L.E., Wilder, E.A. The structural constituents of canauba wax. J. Am. Oil Chem. Soc., 47, p. 514–518, 1970.

Villalobos-Hernandez, J.R., Muller-Goymann, C.C. Novel nanoparticulate carrier system based on carnauba wax and decyl oleate for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 60, p. 113 - 122, 2005.

Villalobos-Hernandez, J.R., Muller-Goymann, C.C. Sun protection enhancement of titanium dioxide crystals by the use of carnauba wax nanoparticles: The synergistic interaction between organic and inorganic sunscreens at nanoscale. *International Journal of Pharmaceutics*, 322, p. 161 - 170, 2006.

Villamagna, F., Whitehead, M.A., Chattopadhyay, A.K. A molecular modelling approach to the analysis of present and design of future surfactants for water-in-oil emulsions. *Journal of molecular Structure (Theochem)*, n. 343, p. 77-103, 1995.

Warth, A.H. *The Chemistry and Technology of waxes*. New York, Reinhold Publishing Corporation, second printing, p. 366- 376, 1947.

Watanabe, S., Sato, H., Shibuichi, S., Okamoto, M., Inoue, S., Satoh, N. Novel Color enhancement technology by formation of nano-sized structure on fiber surfaces, 25th, IFSCC conference, Amsterdam. *International Federation of Societies of Cosmetics Chemists*, p. 89-94, 2007.

Westesen, K., Siekmann, B., Investigation of the gel formation of phospholipids-stabilized solid lipid nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 151, p. 35 - 45, 1997.

Wiechers, J. W.. *Science and applications of skin delivery systems*. Allured Publishing Corporation, USA, 525 p., 2008.

Williams, D.F., Schmitt, W.H. *Chemistry and Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry*, Second edition, Blackie Academic & Professional, p. 22 - 103, 1996.

Wissing, S.A., Muller, R.H. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, 254, p.65-68, 2003.

Zulli, F., Suter, F., Birman, M. Cationic nanoparticles: a new system for the delivery of lipophilic UV-filters to hair. *Drug Cosmet. Ind.*, 4, p. 46 - 48, 1996.

Yoshihiro, S., Takayuki, O., Yasunari, N., Fuminori, H. Fine dispersion composition of wax, hair preparation and glazing agent. US Patent No. 6066316, 2000.

9. ANEXOS

9.1. Anexo I

Este anexo contém as Tabelas com os resultados de diâmetro de partículas em função da pressão do ar de atomização, obtidos nos testes preliminares da preparação das micropartículas com as ceras de carnaúba, silicone e parafina por *spray cooling*.

Tabela 27: Diâmetro médio de partículas em função da variação da concentração da cera e pressão do ar de atomização.

Composição Lipídica	Pressão do ar / (psi)	Diâmetro médio / $\mu\text{m} \pm \text{DP}$		
		Cera de carnaúba	Cera de silicone	Parafina
100% Cera	5	319,68 \pm 49,01	220,4 \pm 93,43	95,34 \pm 62,92
	10	156,82 \pm 85,16	163,34 \pm 68,05	65,45 \pm 31,20
	15	134,34 \pm 87,62	89,57 \pm 48,93	51,32 \pm 17,81
	20	59,84 \pm 55,62	83,63 \pm 44,75	51,31 \pm 28,47
70% Cera 30% Activeshine Amazon	5	266,01 \pm 150,17	225,89 \pm 95,66	115,54 \pm 73,01
	10	160,95 \pm 77,14	114,8 \pm 52,16	92,53 \pm 40,14
	15	143,28 \pm 44,94	104,8 \pm 57,08	65,54 \pm 40,36
	20	107,48 \pm 49,01	100,05 \pm 55,26	57,04 \pm 36,90
50% Cera 50% Activeshine Amazon	5	264,02 \pm 79,46	234,38 \pm 97,85	133,22 \pm 65,88
	12,5	193,48 \pm 70,61	149,29 \pm 79,29	82,18 \pm 47,52
	20	126,37 \pm 72,93	101,42 \pm 49,86	56,49 \pm 32,73
30% Cera 70% Activeshine Amazon	5	274,61 \pm 77,42	266,13 \pm 103,64	134,6 \pm 76,97
	10	227,69 \pm 80,85	201,42 \pm 99,63	104,46 \pm 54,18
	15	162,48 \pm 63,32	153,6 \pm 70,41	83,13 \pm 43,70
	20	142,78 \pm 52,13	128,6 \pm 59,13	80,29 \pm 41,43

Tabela 28: Diâmetro médio de partículas obtidas com 100% de cera de carnaúba, em função da pressão do ar de atomização.

Pressão (psi)	Diâmetro médio/ $\mu\text{m} \pm \text{DP}$
5	319,68 \pm 85,16
10	156,81 \pm 90,68
15	134,34 \pm 87,62
20	29,67 \pm 14,57
30	37,8 \pm 23,51
40	36,26 \pm 18,08
50	46,47 \pm 22,74

9.2. Anexo II

Este anexo contém as Tabelas com os resultados de condutividade, diâmetro médio, polidispersidade e potencial zeta, das nanopartículas preparadas por inversão de fase por temperatura.

Tabela 29: Valores de condutividade obtidos durante o processo de emulsificação, na etapa de aquecimento das formulações 1 a 4. Formulação (1), sem sorbitol; formulação (2), com 4% de sorbitol; formulação (3), com 8% de sorbitol e formulação (4), com 8% de sorbitol e 0,60% de CTAC.

Temperatura (°C)	Condutividade (mS/cm)			
	(1) Sem Sorbitol	(2) 4% Sorbitol	(3) 8% Sorbitol	(4) 8% Sorbitol e 0,60% CTAC
75	9,400 ± 0,177	8,253 ± 0,074	7,627 ± 0,535	8,767 ± 0,059
76	9,431 ± 0,192	8,167 ± 0,048	7,504 ± 0,445	8,699 ± 0,083
77	9,470 ± 0,208	8,054 ± 0,067	7,482 ± 0,373	8,376 ± 0,043
78	9,454 ± 0,221	8,049 ± 0,054	7,502 ± 0,202	8,186 ± 0,069
79	9,479 ± 0,231	8,034 ± 0,049	7,456 ± 0,089	8,069 ± 0,089
80	9,475 ± 0,221	8,036 ± 0,035	7,421 ± 0,059	7,925 ± 0,185
81	9,488 ± 0,199	8,032 ± 0,049	7,491 ± 0,071	7,808 ± 0,052
82	9,493 ± 0,216	8,013 ± 0,054	7,528 ± 0,063	7,728 ± 0,064
83	9,489 ± 0,223	8,004 ± 0,054	7,559 ± 0,084	7,679 ± 0,036
84	9,505 ± 0,182	7,98 ± 0,042	7,588 ± 0,117	7,672 ± 0,024
85	9,483 ± 0,142	7,974 ± 0,057	7,534 ± 0,140	7,598 ± 0,045
86	9,424 ± 0,197	7,942 ± 0,088	7,518 ± 0,154	7,469 ± 0,17
87	9,399 ± 0,192	7,953 ± 0,067	7,512 ± 0,199	7,276 ± 0,098
88	9,344 ± 0,158	7,923 ± 0,069	7,531 ± 0,213	7,133 ± 0,021
89	9,321 ± 0,214	7,957 ± 0,047	7,510 ± 0,257	7,079 ± 0,024
90	9,303 ± 0,254	7,951 ± 0,025	7,226 ± 0,356	7,068 ± 0,016
91	9,271 ± 0,264	7,886 ± 0,033	6,508 ± 0,655	7,022 ± 0,011
92	9,218 ± 0,306	7,711 ± 0,213	5,203 ± 0,520	6,955 ± 0,086
93	9,133 ± 0,351	7,558 ± 0,171	3,771 ± 0,013	6,727 ± 0,231
94	9,094 ± 0,351	7,579 ± 0,343	2,444 ± 0,577	6,927 ± 0,054
95	8,930 ± 0,337	7,413 ± 0,424	1,346 ± 0,325	6,681 ± 0,159
96	8,702 ± 0,156	6,082 ± 0,25	0,788 ± 0,245	6,624 ± 0,052
97	6,340 ± 0,134	2,932 ± 0,943	0,386 ± 0,062	6,209 ± 0,518

Tabela 30: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas nas formulações 1, 5 e 6, contendo diferentes concentrações de óleo de mamona PEG-40, sem a presença de sorbitol.

Formulação	Concentração de óleo de mamona PEG-40/ %	Diametro médio/ nm	Polidispersidade
5	5	100,40 ± 17,39	0,324 ± 0,010
1	10	89,94 ± 7,48	0,210 ± 0,054
6	20	45,13 ± 2,34	0,271 ± 0,021

Tabela 31: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas nas formulações 5, 7 e 8, contendo diferentes concentrações de sorbitol, na presença de 5% óleo de mamona PEG-40.

Formulação	Concentração de sorbitol/ %	Diametro médio/ nm	Polidispersidade
5	0	100,4 ± 17,4	0,324 ± 0,010
7	4	137,9 ± 6,9	0,254 ± 0,013
8	8	166,3 ± 4,9	0,109 ± 0,012

Tabela 32: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas com as formulações 3, 8, 9 e 10, contendo diferentes concentrações de óleo de mamona PEG-40, na presença de 8% de sorbitol.

Formulação	Concentração de óleo de mamona Peg-40/ %	Diametro médio/ nm	Polidispersidade
3	10%	79,41 ± 1,00	0,138 ± 0,043
8	5%	166,3 ± 4,9	0,109 ± 0,012
10	4%	189,2 ± 2,8	0,160 ± 0,055
9	3%	175,4 ± 5,9 (2 populações)	0,225 ± 0,018

Tabela 33: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas obtidas com as formulações 3, 16 e 17, onde variou-se a concentração dos lipídios, e manteve-se fixa a proporção de lipídios/ tensoativos (2:1).

Formulação	% Concentração de lipídeos	Sem choque térmico		Com choque térmico	
		Diâmetro médio/ nm	Polidispersidade	Diâmetro médio/ nm	Polidispersidade
3	20	96,14 ± 1,54	0,162 ± 0,036	79,41 ± 1,00	0,138 ± 0,043
16	30	124,3 ± 12,34	0,493 ± 0,042	72,36 ± 4,12	0,150 ± 0,030
17	40	94,13 ± 4,29	0,511 ± 0,06	84,21 ± 9,08	0,587 ± 0,039

Tabela 34: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número) e polidispersidade das nanopartículas em função do processo de emulsificação utilizado (Formulação 8).

Formulação	Processo	Diâmetro médio (nm)	Polidispersidade
8	Fase oleosa sobre aquosa	168,0 ± 24,5	0,083 ± 0,015
	Fase aquosa sobre oleosa	177,5 ± 8,2	0,102 ± 0,018

Tabela 35: Resultados de diâmetro médio (distribuição por número), polidispersidade e potencial zeta das nanopartículas obtidas a partir das formulações 3, e 18 a 25, contendo lauroil lisina e quaternários de amônio (CTAC, BTAC e SDBAC).

	Formulação	Catiônico	Diâmetro médio (nm)	Polidispersidade	Potencial zeta (mV)
Sem Lauroil Lisina	3	-	$83,19 \pm 1,49$	$0,151 \pm 0,008$	$-21,6 \pm 0,5$
Lauroil Lisina (Fase oleosa)	18	LS	$84,96 \pm 2,98$	$0,158 \pm 0,040$	$-25,2 \pm 1,7$
	19	LS + CTAC	$108,3 \pm 1,8$	$0,253 \pm 0,024$	$+40,8 \pm 0,8$
	20	LS + BTAC	$139,2 \pm 5,44$	$0,313 \pm 0,028$	$+58,1 \pm 0,9$
	21	LS + SDBAC	$111,1 \pm 3,30$	$0,271 \pm 0,007$	$+54,9 \pm 3,1$
	22	LS	$81,47 \pm 1,05$	$0,189 \pm 0,059$	$-20,5 \pm 0,2$
Lauroil Lisina (Fase aquosa)	23	LS + CTAC	$94,85 \pm 0,92$	$0,176 \pm 0,053$	$+27,3 \pm 0,6$
	24	LS + BTAC	$91,68 \pm 3,60$	$0,224 \pm 0,025$	$+27,6 \pm 0,8$
	25	LS + SDBAC	$116,8 \pm 10,75$	$0,236 \pm 0,074$	$+28,5 \pm 0,7$

Tabela 36: Resultados de polidispersidade (PDI), diâmetro médio (DM) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 19, contendo lauroil lisina e CTAC, após 120 dias.

Tempo/ dias	Escuro (Temperatura ambiente)			Estufa (40-45 °C)			Geladeira (2 - 8 °C)		
	DM (nm)	PDI	PZ (mV)	DM (nm)	PDI	PZ (mV)	DM (nm)	PDI	PZ (mV)
0	$106,8 \pm 4,4$	$0,201 \pm 0,016$	$38,9 \pm 1,1$	$106,8 \pm 4,4$	$0,201 \pm 0,016$	$38,9 \pm 1,1$	$106,8 \pm 4,4$	$0,201 \pm 0,016$	$38,9 \pm 1,1$
30	$102,8 \pm 3,9$	$0,240 \pm 0,010$	$44,0 \pm 3,6$	$105,2 \pm 14,2$	$0,249 \pm 0,076$	$45,0 \pm 0,4$	$105,1 \pm 5,5$	$0,163 \pm 0,015$	$41,6 \pm 2,3$
60	$106,1 \pm 9,4$	$0,239 \pm 0,009$	$44,8 \pm 0,3$	$106,6 \pm 8,2$	$0,180 \pm 0,030$	$40,3 \pm 0,5$	$109,3 \pm 3,1$	$0,180 \pm 0,072$	$43,0 \pm 0,4$
90	$103,9 \pm 7,1$	$0,169 \pm 0,013$	$41,9 \pm 0,3$	$79,31 \pm 4,79$	$0,182 \pm 0,014$	$42,7 \pm 1,9$	$86,64 \pm 1,95$	$0,152 \pm 0,028$	$45,6 \pm 0,9$
120	$106,7 \pm 5,2$	$0,254 \pm 0,037$	$40,2 \pm 3,1$	$109,8 \pm 4,6$	$0,268 \pm 0,013$	$37,6 \pm 1,0$	$102,2 \pm 1,9$	$0,261 \pm 0,041$	$41,2 \pm 1,2$

Tabela 37: Resultados de polidispersidade (PDI), diâmetro médio (DM) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 20, contendo lauroil lisina e BTAC, após 120 dias.

Tempo/ dias	Escuro (Temperatura ambiente)			Estufa (40-45 °C)			Geladeira (2 - 8 °C)		
	DM (nm)	PDI	PZ (mV)	DM (nm)	PDI	PZ (mV)	DM (nm)	PDI	PZ (mV)
0	$95,00 \pm 4,47$	$0,261 \pm 0,007$	$64,0 \pm 1,6$	$95,00 \pm 4,47$	$0,261 \pm 0,007$	$64,0 \pm 1,6$	$95,00 \pm 4,47$	$0,261 \pm 0,007$	$64,0 \pm 1,6$
30	$97,91 \pm 0,90$	$0,254 \pm 0,032$	$64,6 \pm 0,8$	$99,87 \pm 4,83$	$0,247 \pm 0,014$	$56,7 \pm 1,9$	$94,17 \pm 3,3$	$0,236 \pm 0,036$	$58,7 \pm 2,5$
60	$95,50 \pm 2,81$	$0,256 \pm 0,028$	$58,3 \pm 3,8$	$99,10 \pm 2,89$	$0,278 \pm 0,013$	$61,8 \pm 0,3$	$99,43 \pm 1,30$	$0,267 \pm 0,020$	$57,4 \pm 2,5$
90	$95,48 \pm 3,97$	$0,206 \pm 0,014$	$54,3 \pm 1,7$	$97,23 \pm 4,02$	$0,217 \pm 0,039$	$54,3 \pm 3,2$	$86,96 \pm 7,86$	$0,245 \pm 0,018$	$55,7 \pm 0,1$
120	$101,9 \pm 2,9$	$0,283 \pm 0,004$	$54,3 \pm 0,4$	$96,47 \pm 5,50$	$0,308 \pm 0,027$	$55,8 \pm 0,2$	$87,58 \pm 5,66$	$0,265 \pm 0,011$	$60,3 \pm 2,1$

Tabela 38: Resultados de polidispersidade (PDI), diâmetro médio (DM) e potencial zeta (PZ) das nanopartículas obtidas a partir da formulação 21, contendo lauroil lisina e SDBAC, após 120 dias.

Tempo/ dias	Escuro (Temperatura ambiente)			Estufa (40-45 °C)			Geladeira (2 - 8 °C)		
	DM (nm)	PDI	PZ (mV)	DM (nm)	PDI	PZ (mV)	DM (nm)	PDI	PZ (mV)
0	92,82 ± 1,76	0,220 ± 0,026	52,1 ± 2,6	92,82 ± 1,76	0,220 ± 0,026	52,1 ± 2,6	92,82 ± 1,76	0,220 ± 0,026	52,1 ± 2,6
30	97,94 ± 1,41	0,242 ± 0,023	57,8 ± 3,1	96,60 ± 2,67	0,257 ± 0,010	60,8 ± 2,3	101,5 ± 0,2	0,250 ± 0,022	60,3 ± 1,0
60	94,62 ± 2,01	0,235 ± 0,054	58,2 ± 2,4	100,0 ± 0,9	0,270 ± 0,030	53,4 ± 1,5	99,89 ± 3,67	0,243 ± 0,027	60,0 ± 1,1
90	72,46 ± 2,94	0,227 ± 0,037	61,3 ± 2,1	76,93 ± 4,52	0,190 ± 0,053	60,3 ± 2,7	74,21 ± 9,19	0,185 ± 0,022	62,9 ± 0,8
120	93,25 ± 7,1	0,264 ± 0,009	52,6 ± 3,1	98,02 ± 0,63	0,270 ± 0,017	51,7 ± 1,5	99,07 ± 1,79	0,246 ± 0,008	56,6 ± 0,5

Tabela 39: Resultados de polidispersidade e diâmetro médio, das nanopartículas obtidas a partir da formulação 26 (sem CTAC) e 27, contendo lauroil lisina e CTAC. Avaliação da influência da etapa de adição do quaternário de amônio (CTAC) sobre a formação das partículas.

Formulação	Processo	Diametro médio/ (nm)	Polidispersidade
26	Sem CTAC	166,2 ± 0,109	0,109 ± 0,012
27	Processo 1	87,86 ± 20,51	0,171 ± 0,07
27	Processo 2	169,4 ± 9,66	0,153 ± 0,028

Processo 1: emulsificação com a presença do CTAC

Processo 2: adição do CTAC após a formação das partículas.

Tabela 40: Resultados de polidispersidade, diâmetro médio e potencial zeta das nanopartículas em função da concentração dos quaternários (CTAC, BTAC e SDBAC), obtidas a partir das formulações 28 a 42.

Quaternário	Formulação	Concentração/ %	Diametro médio /nm	Polidispersidade	Potencial Zeta (mV)
CTAC	28	0,00	160,8 ± 2,6	0,098 ± 0,013	-41,8 ± 1,3
	29	0,10	159,4 ± 2,1	0,097 ± 0,016	+25,6 ± 1,0
	30	0,20	158,3 ± 17,8	0,097 ± 0,021	+35,2 ± 0,3
	31	0,30	151,5 ± 7,1	0,127 ± 0,009	+37,5 ± 0,4
	32	0,60	165,9 ± 2,5	0,113 ± 0,032	+46,2 ± 2,9
BTAC	33	0,00	167,0 ± 3,3	0,099 ± 0,007	-31,7 ± 0,8
	34	0,10	164,6 ± 5,1	0,112 ± 0,007	+36,2 ± 2,2
	35	0,20	160,9 ± 1,9	0,130 ± 0,014	+60,9 ± 1,1
	36	0,30	170,1 ± 6,5	0,126 ± 0,002	+73,5 ± 1,6
	37	0,60	191,8 ± 2,5	0,130 ± 0,010	+74,9 ± 1,2
SDBAC	38	0,00	156,9 ± 2,1	0,106 ± 0,006	-39,5 ± 2,3
	39	0,10	158,7 ± 4,2	0,133 ± 0,007	+26,5 ± 0,4
	40	0,20	161,6 ± 11,9	0,130 ± 0,012	+51,8 ± 0,6
	41	0,30	166,9 ± 2,1	0,108 ± 0,031	+58,5 ± 1,6
	42	0,60	165,4 ± 8,2	0,160 ± 0,028	+70,1 ± 2,5